



UNIVERSIDADE DE LISBOA

Faculdade de Medicina Veterinária

SEGURANÇA SANITÁRIA DOS MOLUSCOS BIVALVES VIVOS PRODUZIDOS EM ZONAS
ESTUARINAS PORTUGUESAS E RESPECTIVO CONTROLO OFICIAL

Vasco Gonçalo Pereira de Oliveira

CONSTITUIÇÃO DO JURI

Doutor António Salvador Ferreira Henriques
Barreto

Doutor Fernando Manuel D'Almeida
Bernardo

Doutora Ana Rita Barroso Cunha de Sá
Henriques

ORIENTADOR

Doutor Fernando Manuel D'Almeida
Bernardo

2018

LISBOA



UNIVERSIDADE DE LISBOA

Faculdade de Medicina Veterinária

SEGURANÇA SANITÁRIA DOS MOLUSCOS BIVALVES VIVOS PRODUZIDOS EM ZONAS
ESTUARINAS PORTUGUESAS E RESPETIVO CONTROLO OFICIAL

Vasco Gonçalo Pereira de Oliveira

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO EM SEGURANÇA ALIMENTAR

CONSTITUIÇÃO DO JURI

Doutor António Salvador Ferreira Henriques
Barreto

Doutor Fernando Manuel D'Almeida
Bernardo

Doutora Ana Rita Barroso Cunha de Sá
Henriques

ORIENTADOR

Doutor Fernando Manuel D'Almeida
Bernardo

2018

LISBOA

Agradecimentos

Na realização desta dissertação, várias pessoas contribuíram de algum modo e por isso não podia deixar de lhes agradecer:

Agradeço ao Professor Doutor Fernando Manuel d'Almeida Bernardo por ter aceite ser meu orientador e por me ter transmitido os seus vastos conhecimentos tao enriquecedores.

Agradeço à minha família (Mãe, Pai e Irmã) pelo apoio, suporte prestado, paciência e carinho, sem vocês não teria sido possível a realização deste meu projeto pessoal e profissional.

Agradeço a minha filha Sara por ter suportado tão bem as minhas ausências, sobretudo quando estava a realizar a parte curricular no mestrado, também por querer vir as vezes assistir as aulas. O teu sorriso para mim é a coisa mais bonita que já vi, e sempre serás o meu grande amor!

Agradeço a minha grande amiga Maria Manuel (Mané) por tudo o fez por mim, especialmente por me ter incentivado a voltar a estudar, bem como, pelo apoio que me têm dado na minha vida.

Agradeço a Mafalda, pela paciência, carinho e ajuda especializada, realmente foste uma grande surpresa!

Agradeço a Cláudia, pela ajuda e paciência e tempo pessoal desperdiçado na ajuda.

Agradeço a Lubélia, pelas palavras sempre sábias que transmites.

Não posso deixar de agradecer as minhas duas colegas do mestrado, Katy e Tininha, sem vocês seria tudo mais difícil.

Resumo

Segurança sanitária dos moluscos bivalves vivos produzidos em zonas estuarinas portuguesas e respetivo controlo oficial

Atendendo às características do seu meio natural, os moluscos bivalves vivos (MBV), podem estar sujeitos a diversas contaminações, nomeadamente microbiológicas, físico-químicas e por biotoxinas.

O facto de a alimentação dos MBV ser realizada por filtração, faz com que estes estejam sujeitos a contaminação por microrganismos, contaminantes e biotoxinas existentes no meio natural (água, fundo bêntico). Entre os microrganismos que podem representar risco para a saúde humana incluem-se alguns patogénicos. Os MBV, por norma, são sujeitos a uma confeção ligeira (tempo/temperatura), pelo que é importante o seu controlo do ponto de vista da segurança dos alimentos. *Ruditapes philippinarum*, ou amêijoa-japonesa, é o nome pelo qual é mais conhecida em Portugal, sendo uma das espécies de MBV mais consumidas, devido à sua disponibilidade no mercado, preço, acessibilidade e mesmo características organoléticas.

Para que possam ser disponibilizados ao consumidor, os MBV têm de cumprir com os critérios microbiológicos estipulados no Regulamento (CE) n.º 2073/2005 da Comissão de 15 de Novembro de 2005 (*Salmonella* e *Escherichia coli* (*E.coli*)) e com os teores máximos de contaminantes fixados no Regulamento (CE) n.º 1881/2006 da Comissão, de 19 de Dezembro de 2006. O incremento de apanhadores de MBV não autorizados, sobretudo no estuário do Tejo, a captura destes em locais não permitidos, bem como o aumento de depuradoras e centros de depósitos não autorizados oficialmente, podem ser alguns dos fatores responsáveis pela falência do sistema de garantia que a amêijoa-japonesa fornecida ao consumidor final seja segura do ponto de vista microbiológico e/ou químico.

Palavras-chave: *Ruditapes philippinarum*, amêijoa-japonesa, critérios microbiológicos, moluscos bivalves vivos (MBV)

Abstract

Safety of life molluscs produced in portuguese estuarine áreas and their official control.

Because of their natural environment, bivalve mollusks may be subject to various contaminations, such as microbiological, physico-chemical, environmental (contaminants) and biotoxins, they fed through filtration, which allow them to exposures and accumulations of microorganisms, contaminants and biotoxins.

Among microorganisms considered to be a more relevant threat to human health are pathogens. Generally, bivalves are subject to rapid cooking (reduced time / temperature), so it is important to manage the risk associated with the consumption of bivalves, since they have different characteristics of use from other foodstuffs

Ruditapes philippinarum, or Japanese carpet shell or Manilla clam, is one of the most consumed bivalves' species in Portugal, due to its high availability, price, accessibility and organoleptic characteristics.

Bivalves have to comply with established legal parameters, mainly microbiological, through the safety criteria *Salmonella* and *Escherichia coli* (*E. coli*).

The increase of fishermen, especially in Tejo estuary, picking up clams in non-permitted areas, the increase of unauthorized (illegal) deposits and depuration centers, may indicate that the Japanese carpet shells eaten by the consumers, may not be safe.

Keywords: *Ruditapes philippinarum*, Japanese carpet shell, Manilla clam, microbiological criteria, bivalve molluscs

Índice

Agradecimentos	i
Resumo	iii
Abstract	v
Índice de figuras	ix
Índice de gráficos.....	ix
Índice de tabelas.....	xi
Lista de siglas e abreviaturas.....	xii
Introdução.....	1
Objetivos.....	2
1.1. Características morfológicas dos bivalves.....	3
1.1. Breve caracterização da amêijoa japonesa (<i>Ruditapes philippinarum</i>).....	4
1.2. Origem e dispersão da amêijoa-japonesa	6
2. Qualidade e segurança dos moluscos bivalves vivos	9
2.1. Critérios legais	9
2.2. Potenciais contaminações dos moluscos bivalves vivos	13
2.3. Riscos microbiológicos dos moluscos bivalves vivos	13
2.4. Riscos químicos/contaminantes dos moluscos bivalves vivos.....	17
2.5. Biotoxinas marinhas nos moluscos bivalves vivos.....	18
3. Requisitos legais dos moluscos bivalves vivos.....	19
3.1. Requisitos para áreas de produção.....	19
3.2. Apanha de moluscos bivalves vivos	22
3.3. Afinação/transposição prolongada de moluscos bivalves vivos	22
3.4. Depuração de moluscos bivalves vivos	23
3.5. Centros de expedição de moluscos bivalves vivos	24

3.6.	Regras de higiene aplicáveis aos moluscos bivalves vivos	26
3.7.	Transporte de moluscos bivalves vivos	27
3.8.	Requisitos aplicáveis aos moluscos bivalves vivos no retalho.....	27
4.	Amêijoa-japonesa no estuário do Tejo	28
4.1.	Contexto social económico	29
4.2.	Depuradoras e centro de depósitos não licenciados	29
5.	Segurança sanitária dos moluscos bivalves vivos produzidos em zonas estuarinas portuguesas e respetivo controlo oficial	31
5.1.	Justificação do trabalho.....	31
5.2.	Material e métodos.....	32
5.3.	Colheita de amostras	33
5.4.	Método analítico para quantificação de <i>Escherichia coli</i>	33
5.5.	Resultados	34
5.5	Dados de contaminantes químicos em moluscos bivalves vivos	40
5.6	Apresentação de dados de amêijoa-boia	42
6.	Apresentação de dados de amêijoa-japonesa.....	46
7	Discussão	55
8	Conclusão	59
	Bibliografia	63

Índice de figuras

Figura 1 - Representação esquemática da anatomia de um bivalve (Fonte: Só biologia, 2018)	3
Figura 2 - Vista interna e externa das valvas da amêijoia-japonesa (Fonte: Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO), 2009).	4
Figura 3 - Coloração externa da amêijoia-japonesa.	5
Figura 4 - Dispersão da amêijoia-japonesa (Fonte: CABI, 2017)	7
Figura 5 - Introdução na Europa da amêijoia-japonesa, (Adaptado de Chiesa <i>et al.</i> , 2017)	8
Figura 6 - Circuito comercial de moluscos bivalves vivos em Portugal.	20
Figura 7 - Zonas estuarinas classificadas (Adaptado de IPMA, 2017)	21
Figura 8 - Depuradora não licenciada (fotografia gentilmente cedida pela ASAE, tirada durante uma ação de fiscalização, 2017).	30
Figura 9 - Depuradora não licenciada (fotografia gentilmente cedida pela ASAE, tirada durante uma ação de fiscalização, 2017).	30
Figura 10 - Percentagem de amostras de MBV colhidas face ao total de amostras do grupo do Pescado no âmbito do PNCA durante o quadriénio 2013-2016	35
Figura 11 - Percentagem de resultados insatisfatórios face aos resultados analíticos	39
Figura 12 - Percentagem de conformidades e de resultados insatisfatórios amêijoia-boia	44
Figura 13 - Percentagem anual de resultados insatisfatórios de origem microbiológica de amêijoia-japonesa	48

Índice de gráficos

Gráfico 1 - Percentagem de resultados satisfatórios e insatisfatórios relativamente ao quadriénio 2013-2016.	37
Gráfico 2 - Percentagem de resultados insatisfatórios PNCA 2009-2016.	37
Gráfico 3 - Causas de resultados insatisfatórios no quadriénio 2013-2016, PNCA	38
Gráfico 4 - Percentagem de resultados insatisfatórios de origem microbiológica por ano	39
Gráfico 5 - Número de amostras analisadas no âmbito do controlo de contaminantes químicos	40

Gráfico 6 - Distribuição de análises efetuadas a metais pesados (mercúrio, chumbo e cádmio) em MBV, no quadriénio 2013-2016.....	41
Gráfico 7 - Resultados conformes e insatisfatórios de MBV para quantificação de metais pesados, no quadriénio 2013-2016 no âmbito do PNCA.....	41
Gráfico 8 - Resultados insatisfatórios de cádmio em ostra.....	42
Gráfico 9 - Número de amostras conformes e com resultados insatisfatórios de amêijoa-ba PNCA, quadriénio 2013-2016	43
Gráfico 10 Matriz de análises efetuadas amêijoa-ba e resultados analíticos.....	44
Gráfico 11 - Resultados quantitativos insatisfatórios em amêijoa-ba expressos em NMP <i>E.coli</i> /100g.....	45
Gráfico 12 - Tipologia de operador económico e resultados não conformes de amêijoa-ba.	46
Gráfico 13 - Resultados de conformidade e resultados insatisfatórios de amêijoa-japonesa	47
Gráfico 14 - Teores de <i>E.coli</i> , <i>Salmonella</i> e causa das não conformidades microbiológicas	49
Gráfico 15 - Locais e número das colheitas de amostras de amêijoa-japonesa entre os anos 2013 e 2016.....	50
Gráfico 16 - Localização dos pontos de recolha das amostras de amêijoa-japonesa com resultados insatisfatórios	51
Gráfico 17 - Tipificação dos estabelecimentos onde foram colhidas as amostras de amêijoa-japonesa e classificação da conformidade analítica.....	52
Gráfico 18 - Amostras com resultados insatisfatórios e conformes quanto ao modo de embalamento das amêijoas-japonesas	52

Índice de tabelas

Tabela 1 - Ano de autorização introdução da espécie <i>Ruditapes philipinarum</i> (Adaptado de Chiesa et al., 2017).....	8
Tabela 2 - Limite Legal <i>E.coli</i> (Regulamento (CE) n.º2073/2005)	10
Tabela 3 - Limite legal de <i>E.coli</i> (Regulamento (EU) n.º 2285/2015).....	10
Tabela 4 - Limite legal de <i>Salmonella</i> (Regulamento 2073/2005)	11
Tabela 5 - Limites legais de biotoxinas marinhas (Regulamento (CE) n. º853/2004)	11
Tabela 6 - Tabela Limites legais de contaminantes químicos (metais pesados)	12
Tabela 7 - Limite legais de contaminantes	12
Tabela 8 - Limites legais de dioxinas	12
Tabela 9 - Classificação das zonas de produção de MBV	19
Tabela 10 - Número total de amostras de MBV Colhidas 2013-2016.....	34
Tabela 11 - Distribuição das principais espécies analisadas, no âmbito do PNCA, período 2013-2016	35
Tabela 12 - Amostras conformes e não conformes grupo MBV, 2013 a 2016.....	36
Tabela 13 - Amostras colhidas de amêijoia-bola no âmbito do PNCA, quadriénio 2013-2016.....	43
Tabela 14 - Número de amostras de amêijoia-japonesa colhidas entre os anos 2013 e 2016	47
Tabela 15 - Resultados insatisfatórios amêijoia-japonesa 2013-2016 (PNCA)	48

Lista de siglas e abreviaturas

%	Percentagem
€	Euro
ASAE	Autoridade de Segurança Alimentar e Económica
AT	Autoridade Tributária
DGAV	Direção Geral de Alimentação e Veterinária
DGRM	Direção Geral de Recursos Marítimos
DR	Diário da Republica
g	Gramas
GNR	Guarda Nacional Republicana
HACCP	Hazard Analysis and Critical Control Points (Análise de perigos e pontos críticos de controlo)
IPAC	Instituto Português de Acreditação
IPMA	Instituto Português do Mar e da Atmosfera
Kg	Quilogramas
LMR	Limites máximos de resíduos
MBV	Moluscos bivalves vivos
°C	Graus Celsius
OMS	Organização Mundial de Saúde
PNCA	Plano Nacional de Colheita de Amostras
T	Tonelada
WHO	World Health Organization (Organização Mundial de Saúde)

Introdução

A grande maioria dos géneros alimentícios são sujeitos a transformação, por via de processamento térmico adequado, ou são mantidos a temperaturas de refrigeração ou congelação que inibem e/ou retardam o desenvolvimento microbiano.

Os requisitos relativos à livre circulação de géneros alimentícios, conforme disposto no Regulamento (CE) N.º 178/2002 do Parlamento Europeu e do Conselho de 28 de janeiro de 2002, visam garantir, para além de um elevado nível de proteção da vida e saúde humana, no sentido em que só podem ser colocados no mercado géneros alimentícios seguros, também a proteção dos interesses dos consumidores, onde se incluem as boas práticas de comércio de géneros alimentícios, ou sejam as práticas leais de comércio.

Sabendo que os perigos microbiológicos e químicos presentes nos géneros alimentícios podem constituir fonte de doença para o ser humano, torna-se importante garantir que os mesmos são seguros (não prejudiciais para a saúde ou impróprios para consumo), nos termos do definido no Regulamento n.º 178/2002.

Como os perigos microbiológicos podem causar um efeito nefasto imediato ou a curto prazo aos seres humanos, importa, pois, garantir que os géneros alimentícios não contenham microrganismos patogénicos, toxinas e metabolitos capazes de causar doença.

Com a obrigatoriedade de os Operadores Económicos passarem a ter de aplicar um sistema baseado nos princípios Hazard Analysis and Critical Control Point (HACCP), passou a existir uma ferramenta de segurança que, quando devidamente aplicada e desde que cumpridos os seus princípios, aumenta a garantia da segurança dos géneros alimentícios e consequentemente a proteção dos consumidores. Sabemos, contudo, que não é possível garantir que exista o chamado risco “zero”.

As áreas de crescimento e apanha de MBV (sobretudo amêijoas), são adjacentes aos estuários que por norma estão contaminados por patogénicos de origem fecal de origem humana ou animal. Como os MBV são animais que se alimentam por filtração de água, a conjugação destes dois fatores faz com que os perigos mais associados aos MBV estejam associados a bactérias patogénicas, pelo que os MBV podem ser entendidos como uma veículo de contaminação (Moschino, Delaney & Da Ros, 2012; Pont *et al.*, 2010).

Sabendo que existe uma mudança de paradigma relacionado com novos hábitos alimentares, sobretudo através da ingestão de alimentos crus ou pouco confeccionados, os MBV poderão ser considerados veículos de microrganismos causadores de toxinfecção alimentar, podendo neste contexto ter um importante impacto em saúde pública (Oliveira, Cunha, Castilho, Romalde, & Pereira, 2011; Oliveira *et al.*, 2012; Rubini *et al.*, 2018).

Dado o risco associado ao consumo de MBV, importa garantir que estes são seguros e não colocam em causa a saúde dos consumidores. No entanto, é sabido que existem mariscadores a negociar bivalves não depurados (sem controlo sanitário) com retalhistas e grossistas, sobretudo amêijoas-japonesa (Anacleto, Pedro, Nunes, Rosa, & Marques, 2013).

Em Portugal, a produção de MBV tem sido um componente importante da aquacultura portuguesa (Bettencourt, Matias & Soares, 2012), sendo que as amêijoas representam 26 % da produção de bivalves em Portugal (5276t) (Anacleto, Maulvault, Barrento, Mendes, Nunes, Rosa & Marques, 2013).

Objetivos

A realização desta dissertação tem como objetivo apresentar os resultados analíticos obtidos no controlo oficial efetuado no quadriénio 2013-2016, a moluscos bivalves produzidos e apanhados em zonas estuarinas portuguesas, que se encontravam colocados à disposição do consumidor (em restaurantes, peixarias e hipermercados, entre outros).

Outro dos objetivos está relacionado com o descrever a realidade nacional no que se refere à comercialização deste género alimentício, em que a apanha ilegal e a comercialização sem o devido controlo sanitário é uma constatação e uma preocupação sanitária das diferentes autoridades nacionais envolvidas no seu controlo.

Os dados apresentados nesta dissertação foram obtidos através de análises microbiológicas (*E.coli*) e químicas (metais pesados), efetuadas em amostras colhidas no âmbito do plano de controlo oficial de géneros alimentícios da Autoridade de Segurança Alimentar e Económica (ASAE), Plano Nacional de Colheita de Amostras (PNCA).

Este plano tem como principal objetivo verificar se os géneros alimentícios colocados à disposição do consumidor final são seguros do ponto de vista microbiológico e químico. Por

este motivo as colheitas das amostras que entram no presente estudo foram na sua quase totalidade realizadas no retalho.

Tal como referido, esta dissertação visa também dar a conhecer o contexto socioeconómico relacionado com a apanha da amêijoia japonesa, bem como algumas atividades ilegais associadas ao circuito comercial da mesma.

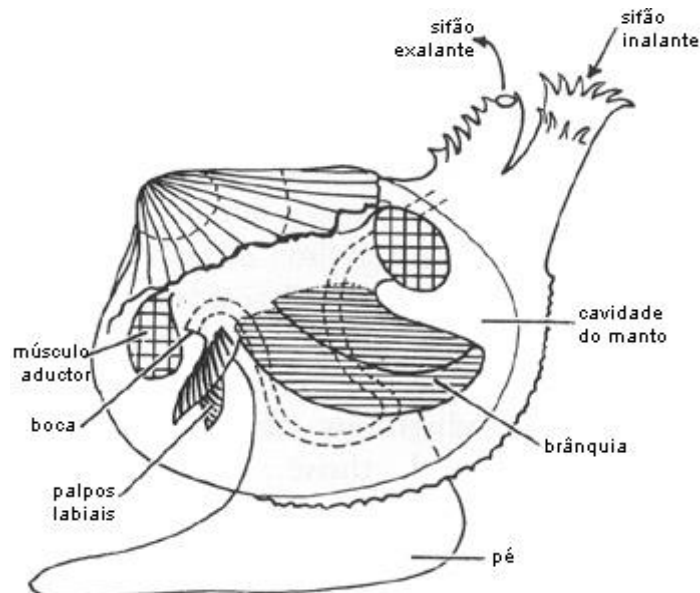
Revisão bibliográfica

1.1. Características morfológicas dos bivalves

Os moluscos bivalves são animais de corpo mole, protegidos através de um exoesqueleto, com forma de uma concha de duas valvas, que se articulam por uma charneira e são mantidas unidas pelos músculos adutores. Estes músculos situados na extremidade dos bivalves são responsáveis pelo fecho do exoesqueleto.

O corpo dos bivalves é composto também por um pé, tendo este como principal função o enterramento no sedimento.

Figura 1 - Representação esquemática da anatomia de um bivalve (Fonte: Só biologia, 2018)



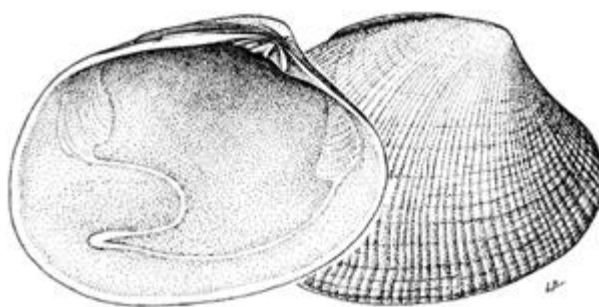
Os bivalves filtram enormes quantidades de água, sendo que se alimentam através deste processo de filtração. A entrada da água nos bivalves que se enterram no sedimento é realizada através de dois sífões, um tem a função inalante e o outro a função exalante.

Relativamente à sua biologia, os moluscos bivalves são influenciados por fatores abióticos (ambientais) e fatores biológicos. Entre os fatores abióticos incluem-se a temperatura, salinidade, quantidade de oxigénio dissolvido na água, entre outros, sendo que, a título de exemplo, a temperatura despoleta um aumento da atividade e, conseqüentemente, um aumento da quantidade de água filtrada, levando a uma maior ingestão de alimentos. Nos fatores biológicos incluem-se a alimentação, competição com outras espécies, entre outros.

A retenção de bactérias pelos bivalves depende da morfologia das bactérias e da fisiologia dos bivalves (Pedro & Silva, 2012). As bactérias ingeridas pelos bivalves através de filtração podem ser degradadas pela lisozima gástrica, servindo como fonte de alimento ao bivalve, ou resistir à ação desta enzima e permanecer inalteradas, sendo neste caso eliminadas, originando uma recontaminação do meio ambiente.

1.1. Breve caracterização da amêijoia japonesa (*Ruditapes philippinarum*)

Figura 2 - Vista interna e externa das valvas da amêijoia-japonesa (Fonte: Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO), 2009).



Relativamente à amêijoia-japonesa, esta dispõe de duas valvas sólidas, simétricas com costelas serradas concêntricas e radiais – Figura 2 (Garaulet, 2011).

Apresenta também uma concha sólida, ovoide, quadrangular, com a margem posterior quase reta. O seio paleal é profundo e arredondado, sem chegar ao centro da valva.

A cor da sua casca é variável, podendo apresentar coloração amarela, branca e/ou castanha, sendo esta a mais comum, podendo ainda apresentar coloração mais escura e irregular (Centre for Agriculture and Biosciences International (CABI), 2017). Quanto ao comprimento, este pode atingir o máximo de 8 cm (FAO, 2009). Interessa referir que de acordo com a Portaria n.º 27/2001 de 15 de janeiro, que fixa os tamanhos mínimos dos peixes, crustáceos e moluscos, a amêijoia-japonesa tem como limite mínimo de captura 4 cm, tamanho que atinge ao fim de 2 anos, aproximadamente.

Figura 3 - Coloração externa da amêijoia-japonesa.



Classificação Taxonómica:

Filo: Mollusca

Classe: Bivalvia

Ordem: Veneroida

Família: Veneridae

Género: Ruditapes

No que diz respeito ao habitat, a amêijoia-japonesa desenvolve-se a cerca de 4 cm da superfície em sedimentos arenosos, sendo um organismo euraliano que ocorre na região inferior dos estuários. Consegue crescer com salinidades de 14 a 33,5 ‰, sendo a ótima de 20.5 ‰ (CABI, 2017; Garaulet, 2011).

A amêijoia-japonesa demonstra ter resistência a baixas temperaturas pois consegue sobreviver entre 0 e 35°C, apesar da temperatura ótima se situar entre os 15 e 28°C (FAO, 2009). Em comparação com a amêijoia-macha (*Venerupis pullastra*) nativa, a amêijoia-japonesa demonstra ter maior resistência a temperaturas baixas, pois utiliza o encerramento das valvas como defesa face ao stress térmico, assegurando assim uma melhor sobrevivência (Anacleto, 2014).

Bidegain & Juanes (2013) referem que a amêijoia-japonesa existe em grandes quantidades, é fácil de capturar, tem um valor de mercado elevado e o seu processo de depuração de toxinas é rápido, o que poderá ser vantajoso comparativamente com outras espécies de amêijoia.

No estudo realizado por Moura (2017), a taxa de crescimento da amêijoia-japonesa no estuário do Tejo é a segunda mais elevada no mundo. Este estudo vem demonstrar que o estuário do Tejo apresenta as condições ideais para o desenvolvimento e dispersão da amêijoia-japonesa.

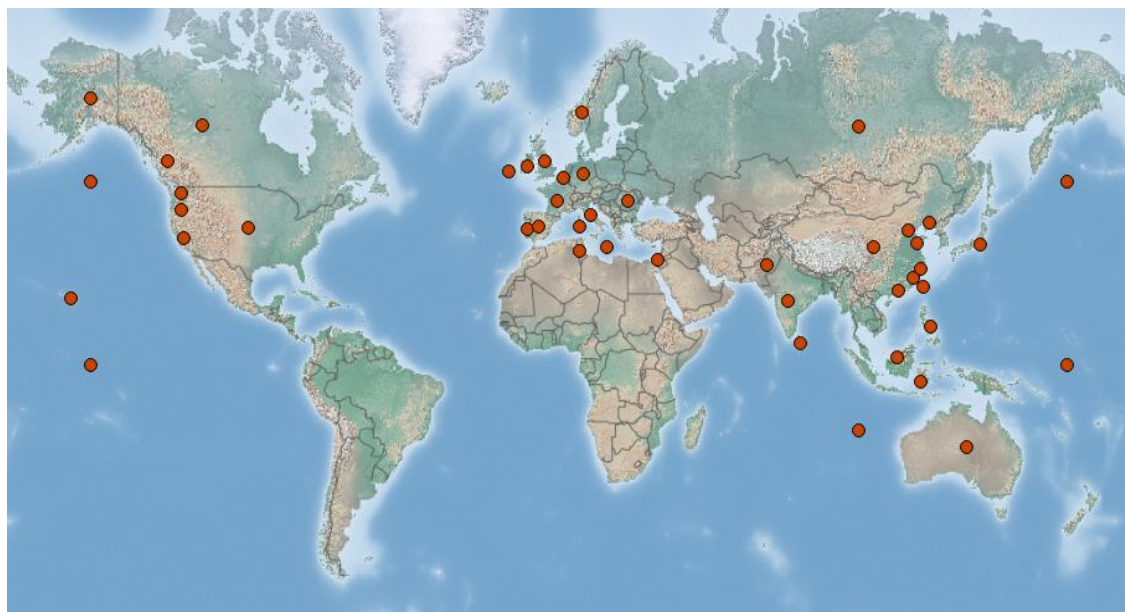
As características reprodutivas desta espécie variam de acordo com a área geográfica (FAO, 2017). A amêijoia-japonesa atinge a maturidade sexual entre o primeiro e terceiro ano de vida (Sladonja, Bettoso, Zentilin, Tamberlich, & Acquavita, 2011). A gametogênese em estado selvagem dura 2-5 meses, seguida da desova, podendo ocorrer uma segunda desova 2-3 meses depois na mesma estação; a desova ocorre entre 20-25°C (FAO, 2017; Lee, Lovatelli, & Ababouch, 2008). O período de descanso sexual é observado desde o final do outono até ao fim do inverno (FAO, 2017).

1.2. Origem e dispersão da amêijoia-japonesa

A amêijoia-japonesa foi descrita em 1850 por Adams & Reeve, cujos primeiros exemplares foram descobertos na ilha de Mindanau nas Filipinas (CABI, 2017).

Atualmente, a amêijoja-japonesa está largamente distribuída por todo o mundo, desde a sua região de origem na zona do oceano Pacífico, até à América do Norte e Europa (Figura n.º 4).

Figura 4 - Dispersão da amêijoja-japonesa (Fonte: CABI, 2017)



Esta espécie é uma das 5 espécies de MBV com maior valor comercial, com um volume anual de captura de 250.000 toneladas em todo o mundo (Chiesa, Lucentini, Freitas, Marzano, Breda, Figueira, Caill-Milly, Herbert, Soares & Argese, 2017.). Em Portugal, no ano de 2009, atingiu um volume de captura de cerca de 9 toneladas, sendo que no ano de 2014 o seu volume de captura aumentou exponencialmente para as 1000 toneladas (Chiesa *et al.*, 2016; Chiesa *et al.*, 2017).

No que diz respeito ao continente Europeu há ainda casos de sucesso na sua produção através de aquacultura, sobretudo no Reino Unido, Itália e Espanha.

A sua introdução na Europa terá ocorrido entre os anos de 1972 e 1974 em Arcachon Bay (França), num total de 70 kg de biomassa. A mesma quantidade de biomassa foi introduzida no Reino Unido em 1980, tal como ocorreu em Itália em 1983 (Stefania *et al.*, 2017). Estas introduções foram autorizadas pelas respetivas autoridades competentes.

No que diz respeito a Portugal, esta espécie é conhecida desde 1984 na ria Formosa, a partir de bivalves oriundos de Espanha, sendo de salientar que a sua introdução não foi autorizada pela autoridade portuguesa competente (Chiesa, Chainho, & Ruano, 2016).

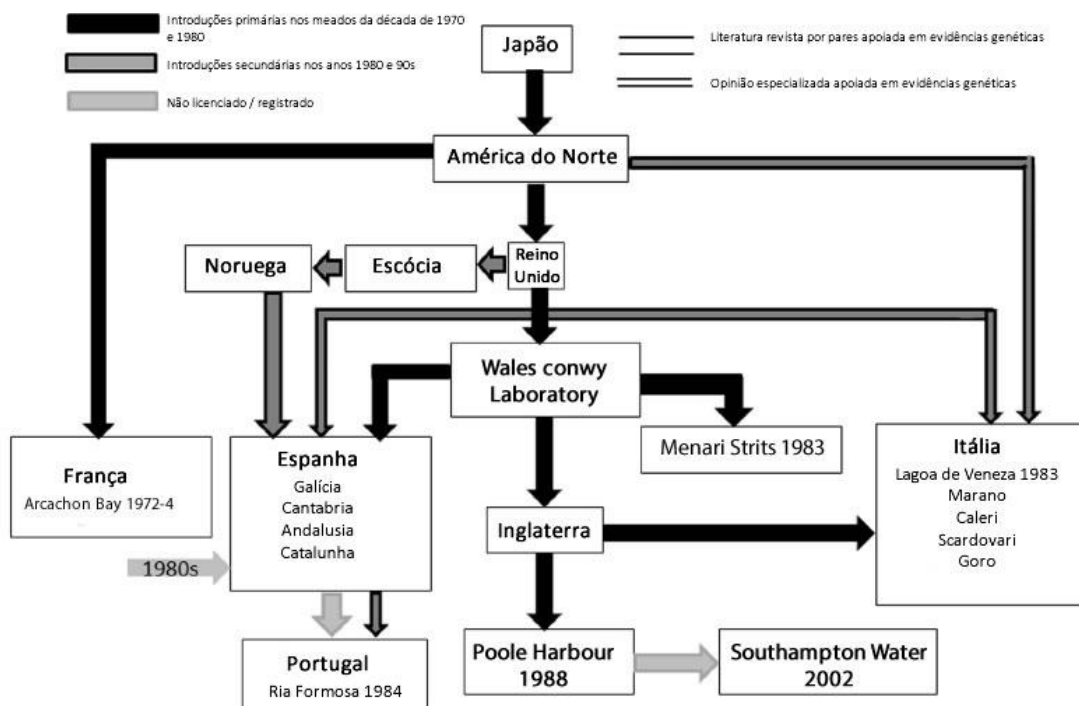
A tabela 1 apresenta o estatuto de autorização de introdução de amêijoja-japonesa em diferentes países europeus e o respetivo ano.

Tabela 1 - Ano de autorização introdução da espécie *Ruditapes phillipinarum* (Adaptado de Chiesa et al., 2017)

País	Ano	Introdução da espécie <i>Ruditapes phillipinarum</i>
França	1972	Autorizada
Reino Unido	1980	Autorizada
Itália	1983	Autorizada
Espanha	1984	Não autorizada
Portugal	1984	Não autorizada

No estudo realizado por Chiesa *et al.*, (2017) relativo a comparação da sequência genética de ácido desoxirribonucleico, foi possível concluir que a introdução da espécie *Ruditapes philippinarum* na Europa foi realizada de acordo com a figura abaixo.

Figura - 5 introdução na europa amêijoja-japonesa, (Adaptado de Chiesa *et al.*, 2017)



Neste estudo há evidências que as colónias de amêijoas japonesa presentes no estuário do Tejo, Sado e Ria de Aveiro e a amêijoas existente em Espanha partilham o mesmo código genético que as amêijoas do Reino Unido, França e Itália. Existem, no entanto, resultados

que apontam para raros códigos genéticos que estão limitados geograficamente em Portugal, podendo indiciar características específicas a Norte e a Sul do país (Chiesa *et al.*, 2017).

A amêijoia japonesa é considerada uma espécie exótica, também designada por não nativa ou não indígena, é a espécie de maior predominância no estuário do rio Tejo, sendo também uma das mais predominantes no rio Sado e Ria de Aveiro (Chiesa *et al.*, 2017).

2. Qualidade e segurança dos moluscos bivalves vivos

2.1. Critérios legais

Nos aspetos relacionados com a segurança sanitária, existem quatro categorias de critérios sanitários que os MBV têm que obrigatoriamente respeitar:

- 1.º Critério está relacionado com frescura e viabilidade;
- 2.º Critério diz respeito aos parâmetros de segurança microbiana;
- 3.º Critério diz respeito as biotoxinas ¹marinhas;
- 4.º Critério diz respeito aos contaminantes ambientais;

A primeira norma sanitária está relacionada com os requisitos organoléticos: associados à frescura e viabilidade. Os MBV devem apresentar as suas conchas livres de sujidade, cheirar a maresia, possuir uma quantidade normal de líquido intervalar, límpido, transparente e devem apresentar à percussão um som maciço) e, quando estimulados no manto, fechar rapidamente (retração dos músculos adutores).

Com a criação do mercado único Europeu tornou-se obrigatório a necessidade de estabelecer critérios de segurança harmonizados, pois é fundamental que exista uma política comum de aceitabilidade de géneros alimentícios, designadamente no que se refere à presença de certos microrganismos patogénicos.

¹ Biotoxinas marinhas: substâncias tóxicas acumuladas pelos moluscos bivalves, em especial por se alimentarem de plâncton que contém toxinas

Assim, com a criação do Regulamento (CE) n.º 2073/2005 de 15 de novembro, foram legalmente estabelecidos critérios microbiológicos² a que os MBV têm de obedecer para poderem ser declarados aptos para colocação no mercado.

A segunda norma sanitária que os MBV têm que cumprir está relacionada com parâmetros de segurança microbiana, existindo dois critérios obrigatórios: a pesquisa de *Salmonella* e contagem de *E.coli*.

Relativamente ao teor de *E.coli*, o limite permitido até dezembro de 2016 era o abaixo indicado:

Tabela 2 - Limite Legal *E.coli* (Regulamento (CE) n.º2073/2005)

Determinação	Limite legal	Amostras (n)	Observações
<i>Escherichia coli</i>	230 NMP <i>E.coli</i> /100g	5 Amostras (1 toma conjunta)	Resultado não pode ser superior a 230 NMP <i>E.coli</i> /100g.

Contudo, com a publicação do Regulamento (UE) n.º 2285/2015 da Comissão, de 8 de dezembro de 2015, que alterou Regulamento (CE) n.º 2073/2005 da Comissão de 15 de Novembro de 2005, o limite estabelecido para a contaminação dos MBV por *E. coli* sofreu alteração sendo que, desde janeiro de 2017, numa amostra constituída por cinco tomas, um desses exemplares pode apresentar um resultado superior a 230 NMP *E.coli*/100g, não podendo contudo exceder os 700 NMP *E.coli*/100g (tabela 3).

Tabela 3 - Limite legal de *E.coli* (Regulamento (EU) n.º 2285/2015)

Determinação	Limite legal	Amostras (n)	Observações
<i>Escherichia coli</i>	230 NMP <i>E.coli</i> /100g	5 Amostras	Um resultado em cinco amostras (n=1) pode ser superior a 230 NMP <i>E.coli</i> /100g, não excedendo os 700 NMP <i>E.coli</i> /100g

² Critério microbiológico: um critério que define a aceitabilidade de um produto, de um lote de géneros alimentícios ou de um processo, baseado na ausência ou na presença de microrganismos, ou no seu número, e/ou na quantidade das suas toxinas/metabólitos, por unidade (s) de massa, volume, área ou lote

Os MBV têm ainda de cumprir outro critério microbiológico estabelecido no Regulamento (CE) n.º 2073/2005: ausência de *Salmonella* em 25 g.

Tabela 4 - Limite legal de *Salmonella* (Regulamento 2073/2005)

Determinação	Limite legal
Pesquisa <i>Salmonella</i> <i>spp.</i>	Ausência em 25 g

A terceira norma sanitária está relacionada com contaminação dos MBV por biotoxinas marinhas, cujos teores máximos se encontram fixados no Regulamento n.º 853/2004 sendo que os MBV não podem conter em quantidades totais (medidas no corpo inteiro ou em qualquer parte comestível separadamente) que excedam os seguintes limites indicados na tabela 5.

Tabela 5 - Limites legais de biotoxinas marinhas (Regulamento (CE) n.º 853/2004)

Determinação	Limite legal
Toxinas paralisantes Paralytic Shellfish Poisoning (PSP)	800 µg/kg
Toxinas Amnésicas Amnesic Shellfish Poison (ASP)	20 mg de ácido domóico /kg
Toxinas Lipofílicas - Para o ácido ocadaico, dinofisistoxinas mais pectenotoxinas	160 µg/ de equivalentes de ácido ocadaico/kg
Toxinas Lipofílicas (Diarrhetic Shellfish Poisoning (DSP)	160 µg/ de equivalentes de azaspirácios/kg
Toxinas Lipofílicas iessotoxinas (DSP)	3,75 mg equivalente de iessotoxinas/kg

A última categoria de norma sanitária relaciona-se com os potenciais contaminantes químicos ambientais. O Regulamento (CE) n.º 1831/2003 da Comissão de 19 de dezembro de 2006, fixa para os MBV os limites máximos de resíduos de alguns dos contaminantes ambientais:

Tabela 6 - Tabela Limites legais de contaminantes químicos (metais pesados)

Determinação	Limite legal
chumbo (Pb)	1,5 mg/kg de peso fresco
cádmio (Cd)	1,0 mg/kg de peso fresco
mercúrio (Hg)	0,5 mg/kg de peso fresco

Tabela 7 - Limite legais de contaminantes

Determinação	Limite Legal
Hidrocarbonetos aromáticos policíclicos	5 µg/kg de peso fresco
Soma de benzo(a)pireno, benz(a)antraceno, benzo(b)fluoranteno e criseno	30 µg/Kg de peso fresco

Tabela 8 - Limites legais de dioxinas

Determinação	Limite Legal
Somatório de dioxinas (PCDD/FTEQ-OMS)	3,5 pg/g de peso fresco
Somatório de dioxinas e pcb sob a forma de dioxina (PCDD/ F-PCBTEQ-OMS)	6,5 pg/g de peso fresco
Somatório de PCB28, PCB52, PCB101, PCB138, PCB153 e PCB180	75 ng/g de peso fresco

³REGULAMENTO (CE) n.º 1831/2006 que fixa os teores máximos de certos contaminantes presentes nos géneros alimentícios

2.2. Potenciais contaminações dos moluscos bivalves vivos

É extensamente conhecido que existem problemas de segurança sanitária relacionados com o consumo de bivalves (Bettencourt *et al.*, 2012). De acordo com Oliveira *et al.* (2011) o risco de intoxicação está relacionado com a ingestão de bivalves contaminados com químicos e biotoxinas, e o risco de infeção humana está relacionado com a ingestão de bivalves contaminados com parasitas, vírus e bactérias. Devido ao facto de os bivalves serem organismos vivos com bioacumulação, os MBV são até considerados como indicadores da contaminação ambiental.

O número de microrganismos presentes em ambiente marítimo e estuarino depende da sazonalidade, clima e fatores antropogénicos, sendo que a contaminação microbiana das águas onde os bivalves se desenvolvem é considerada o principal risco para a produção de bivalves (Anacleto *et al.*, 2013; Bettencourt *et al.*, 2012).

Os valores elevados de *E.coli* na amêijoa-japonesa colhida no estuário do Tejo refletem a características das águas, que por sua vez é influenciada por parâmetros ambientais, tais como, temperatura, salinidade, transparência e chuva (Anacleto *et al.*, 2013).

2.3. Riscos microbiológicos dos moluscos bivalves vivos

O risco microbiológico dos MBV está intrinsecamente ligado ao habitat natural destes animais. As contaminações podem ter diversas origens tais como, efluentes urbanos ou pecuários, agroindustriais, entre outros.

Por norma, os microrganismos de origem entérica vão perdendo progressivamente a sua viabilidade no meio aquático. No entanto, de acordo com Pedro & Silva, (2012), estes microrganismos podem sobreviver durante semanas se existir elevada carga microbiana, turvação, temperaturas mais elevadas e pouca competição com outros microrganismos.

As bactérias patogénicas que podem ser encontradas nos MBV podem ser de várias origens, indígenas (sobretudo *Vibrio.spp*), não indígenas (origem fecal, *Salmonella spp.* *E.coli*, *Shigella.spp*) e bactérias que podem surgir durante a preparação alimentar e processamento (*Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus* e *Clostridium perfringens* (Rubini *et al.*, 2018; P. Anacleto *et al.*, 2013). Neste contexto, os MBV podem representar um potencial risco para os

consumidores, pois por norma os mesmos são consumidos após um breve tratamento térmico.

Estudos apontam para uma correlação direta entre a presença de *E.coli* e a presença de *Salmonella spp.* em água e em especial na amêijoia-japonesa (Rubini *et al.*, 2017), outros estudos referem a presença de valores elevados de indicadores de origem fecal, sem que exista a presença/quantificação de *Salmonella spp.*, ou ainda situações de teores elevados de *Salmonella spp.* face a baixos teores de bactérias de origem fecal (Rubini *et al.*, 2017).

Escherichia coli

Todos os seres humanos e animais de sangue quente são portadores de *E.coli* nos seus intestinos, pois esta bactéria faz parte da microbiota natural (European Food Safety Authority (EFSA), 2017).

A *E.coli* pertence à família Enterobacteriaceae, sendo um bacilo Gram-negativo, oxidase negativo, anaeróbio facultativo, sendo geralmente móvel (EFSA, 2017). São microrganismos mesófilos, cuja temperatura ótima de desenvolvimento se situa perto dos 37°C.

A maioria das estirpes são de baixa virulência, mas algumas das suas estirpes são patogénicas, podendo provocar doenças de maior ou menor severidade. Algumas patovariedades de *E.coli*, têm a capacidade de produzir uma toxina chamada de “*Shiga like*” (Centers for Disease Control and Prevention, (CDC) , 2017).

Entre as diversas variedades de *E.coli*, têm sido descritos vários grupos, tais como VTEC (produtora de verotoxinas), EHEC (Enterohemorrágica, diarreia do viajante), STEC (produtora de toxina Shiga). Estas últimas toxinas têm a capacidade de provocar colite hemorrágica, podendo causar síndrome urémico hemolítico.

A *E.coli* tem sido utilizada como indicador de contaminação fecal e a sua presença no meio aquático é comum, a sua presença indicia a contaminação direta e/ou indireta de origem fecal. Atendendo que é considerado um indicador, pode indicar a presença de outros patogénicos (exemplo *Salmonella*), sendo que de acordo com o estudo de (Anacleto *et al.*, 2013) os níveis de *E.coli* são mais elevados nos meses de inverno.

Salmonella

Como atrás foi referido, a *Salmonella* é um dos microrganismos que é usado como critério de segurança nos MBV, pois a mesma pode estar presente no meio aquático e os MBV alimentam-se por filtração, permitindo que o agente se acumule no manto destes moluscos.

A *Salmonella* pertence à família *Enterobacteriaceae*, e tal como a *E.coli* é um bacilo Gram-negativo, anaeróbio facultativo, oxidase negativo, sendo que a maioria das variedades são móveis. Esta bactéria tem como temperatura ótima de desenvolvimento os 35° a 37°C, podendo, contudo, multiplicar-se a temperaturas entre os 5° e 46°C. Pode ser eliminada através do binómio tempo e temperatura de pasteurização e é também sensível a pH inferior a 4.5 (Amagliani, Brandi, & Schiavano, 2012).

Esta bactéria está presente no trato intestinal de animais, podendo estar presente também no solo e em superfícies, pelo que pode ser transmitida, via fecal-oral através de excreção nas fezes e contaminação ambiental, água, solo, estando largamente distribuída na natureza. De acordo com o estudo de Amagliani *et al.* (2012) a *Salmonella* tem a capacidade elevada de sobreviver quando atinge os solos e ambientes marinhos, de modo a garantir a sua disseminação por novos hospedeiros. A capacidade de sobrevivência de *Samonella* em ambiente salino é ligeiramente superior a *E.coli*.

Formalmente, existem duas espécies de *Salmonella*, *Salmonella enterica* e *Salmonella bongori*, podendo originar dois tipos de doença, com sintomatologia distinta (Amagliani *et al.*, 2012).

A salmonelose não tifóide (*Salmonella entérica*) é geralmente auto-limitante, apresentando sintomas como náuseas, vômitos, diarreia entre outros, podendo, no entanto, apresentar uma taxa de mortalidade em idosos, crianças e imunocomprometidos, ao invés da febre tifoide que é associada a uma taxa de mortalidade mais elevada, causada pelos serotipos *S. typhi* e *S. Paratyphi A*, afetando exclusivamente os humanos (protrófica).

De acordo com Rubini *et al.* (2018), a bactéria *Salmonella* é a segunda causa mais comum de gastroenterite, sendo os riscos associados a um surto alimentar causado por *Salmonella* mais baixo do que aqueles originados por *Vibrio* spp.

Salmonella não tem como habitat natural os meios marítimos, no entanto encontra-se difundida neste meio, tendo mesmo uma prevalência elevada em moluscos, amêijoas entre outros géneros alimentícios de origem aquática (Rubini *et al.*, 2017).

Vibrio

De acordo com os critérios microbiológicos definidos no Regulamento nº 2073/2005, este tipo de microrganismo não é referido como critério de segurança, no entanto, os vírus podem ser fonte de infeção em humanos mesmo com uma dose infetante reduzida. Esta sua capacidade, aliada ao facto de serem indígenas em ambientes marinhos e sabendo que sobrevivem mais tempo no meio marinho e no trato digestivo dos bivalves comparativamente com a *E.coli*, (Oliveira *et al.*, 2011), torna-os num perigo a ter em conta.

No estudo realizado por Carraro, Sanna, Brandas, Sanna, Pinna & Coroneo (2015) foi demonstrado, que alguns moluscos analisados, apesar de microbiologicamente pertencerem a classe A (não necessitando de depuração) e por esse motivo poderem ser colocados no mercado para consumo, apresentavam-se contaminados com *Vibrio spp.*, que pode torná-los não seguros para consumo humano, pois mesmo que os moluscos sejam depurados a presença de vibrios pode ocorrer, sendo que alguns vibrios têm a capacidade de se acumular no intestino dos moluscos, podendo-se multiplicar, fazendo com que a depuração seja ineficaz

O fato de alguns estudos apontarem para a não existência de correlação entre a presença de valores elevados de *E.coli* e *Vibrio spp.*, demonstra que a contagem de *E.coli*, não é suficiente para garantir a segurança da saúde pública e dos consumidores, pois os microrganismos do género Vibro são muito comuns em ambientes marinhos, especialmente em estuários (Carraro *et al.*, 2015).

Estes agentes são de difícil reconhecimento, pois não são visíveis, nem provocam alterações organoléticas (Oliveira *et al.*, (2011) e a sua presença é influenciada por fatores, como a carga orgânica, turvação, temperatura, salinidade e oxigénio. De acordo com Anacleto *et al.*, (2013) existe uma correlação direta entre o aumento da temperatura da água e o aumento de espécies de vibrios, em particular *V. parahaemolyticus* e *V. cholerae*, pelo que a presença destes microrganismos ocorre sobretudo nos meses do verão. Este facto é corroborado por Oliveira *et al.* (2011) que refere no seu estudo que *V. parahaemolyticus*, *V. cholerae* e *V. vulnificus* são tidos como causa de doença através do consumo de bivalves. Deste modo e de acordo com Anacleto *et al.*, (2013) a única forma de proteger os consumidores destes agentes é através da devida confeção das amêijoas antes do consumo.

2.4. Riscos químicos/contaminantes dos moluscos bivalves vivos

Os contaminantes têm um efeito tóxico cumulativo para os seres humanos, pelo que a ingestão continuada de géneros alimentícios com estas substâncias pode provocar a medio/longo prazo doenças crónicas como tumores e/ou afetar o sistema neurológico, entre outros.

Os meios aquáticos (estuários, lagoas, costa marítima) em que os MBV são apanhados e/ou sobrevivem, podem ser sujeitos a contaminantes diversos, devido principalmente a substâncias ou resíduos provenientes da agricultura, indústria entre outros. Cerca de 100.000 contaminantes químicos são utilizados, sendo que alguns destes alcançam zonas marítimas, zonas estuarinas, lagoas e rios, entre estas substâncias referem-se os metais pesados, como o cádmio ou o chumbo que têm sido reconhecidos como um dos maiores poluentes dos sistemas marinhos (Pont *et al.*, (2010). Os Moluscos bivalves têm sido amplamente utilizados como organismos (sentinelas) para monitorização de poluentes químicos devido à sua capacidade de filtração de água. A amêijoia-japonesa tem sido também sugerida como biomonitor em diversas áreas, sobretudo devido a sua larga distribuição e interesse ecológico (Anacleto, Maullvault, Nunes, Carvalho, Rosa & Marques, 2015; Anacleto *et al.*, 2015; Moscino *et al.*, 2012).

A taxa de inclusão de contaminantes em bivalves depende de fatores bióticos (espécies, idade, sexo) e de fatores abióticos (disponibilidade de contaminantes no meio, temperatura, salinidade, taxa de filtração) (Anacleto *et al.* 2015). De acordo com Pont *et al.* (2010) a contaminação dos MBV por agentes patogénicos influencia a concentração de metais pesados, levando um acréscimo de cádmio (Cd), acresce que os bivalves quando submetidos à contaminação por metais, sofrem danos oxidativos (Freitas *et al.*, 2012).

No estudo de Chiesa *et al.* (2018) a amêijoia-japonesa apresenta uma elevada capacidade de acumulação nos seus tecidos e tem capacidades de ser considerado, tal como anteriormente referido, um bioindicador de elementos poluentes em ambientes estuarinos. Neste mesmo estudo foram colhidas amostras de amêijoia de modo a conhecer quais os metais pesados presentes na amêijoia, bem como o risco associado com o seu consumo. Os resultados demonstraram que amostras de amêijoia-japonesa colhidas na zona da base aérea do Montijo, baía do Montijo e dentro da baía do Barreiro, apresentaram valores de chumbo e arsénio superiores aos limites admitidos pela Food Standards Australia New Zealand. Sendo que o

limite máximo de resíduo permitido pela Food Standards para chumbo é de 2mg/kg (superior ao estabelecido no Regulamento n.º 1881/2006 que é de 1,5mg/kg) e para arsénio 1mg/kg (não existindo limite legal para este contaminante).

2.5. Biotoxinas marinhas nos moluscos bivalves vivos

As biotoxinas marinhas são substâncias orgânicas que também não alteram a cor, odor ou sabor dos alimentos (Vale, 2012) e são produzidas por microalgas. Estes metabolitos concentram-se nos bivalves, mais em concreto no hepatopâncreas (órgão digestivo dos bivalves). pelo que os bivalves podem ser considerados os principais vetores para o homem. As biotoxinas originam nos seres humanos diversas sintomatologias do foro neurológico, gastrointestinal ou a combinação destes dois sinais (Manita, 2017; Vale., 2012).

As biotoxinas, representam um perigo para os humanos, pois são resistentes ao calor, ou seja, mesmo que os bivalves sejam sujeitos a tratamento térmico, não significa que as toxinas sejam desativadas. De acordo com Manita (2017), os tratamentos térmicos parecem aumentar a concentração das toxinas na matriz inicial, mas reduz a sua bioacessibilidade.

Os principais eventos de contaminação por biotoxinas (duração e severidade) deve-se sobretudo a contaminação por DSP e ou PSP (Vale, 2012). A biotoxina DSP apresenta uma distribuição assimétrica e ocorre em estuários e lagoas, apresentando concentrações elevadas (podendo levar a gastroenterites graves), por longos períodos de tempo, sendo considerado mesmo um fenómeno recorrente. No que concerne à biotoxina PSP esta é periódica, ou seja, existem anos em que a sua presença não é detetada e com severidade ligeira, ao invés, de outros anos em que a sua presença é mais assídua (Vale, 2012).

Em Portugal o Instituto Português do Mar e da Atmosfera (IPMA) é a entidade responsável por controlar os níveis de toxinas presentes nas zonas de produção costeiras e zonas estuarino-lagunares.

3. Requisitos legais dos moluscos bivalves vivos

3.1. Requisitos para áreas de produção

Atendendo a que os moluscos bivalves são animais que obtêm a sua alimentação por filtração da água, sendo propensos a acumular compostos químicos, toxinas e microrganismos como bactérias e vírus, alguns podem ser patogénicos para o Homem.

Para reduzir o risco para a saúde pública os MBV devem ser apanhados em locais autorizados, sendo que existem diferentes estatutos sanitários que são atribuídos, consoante o teor de contaminação fecal.

Deste modo, os MBV destinados ao consumo humano, têm de ser provenientes de zonas de produção⁴ designadas e classificadas pela autoridade competente ou de áreas de transposição devidamente designadas.

Em Portugal a entidade responsável pela classificação de zonas de produção de bivalves é o Instituto Português do Mar e Atmosfera (IPMA), sendo que as 3 zonas de produção se encontram estabelecidas de acordo com o quadro abaixo (tabela 9).

Tabela 9 - Classificação das zonas de produção de MBV

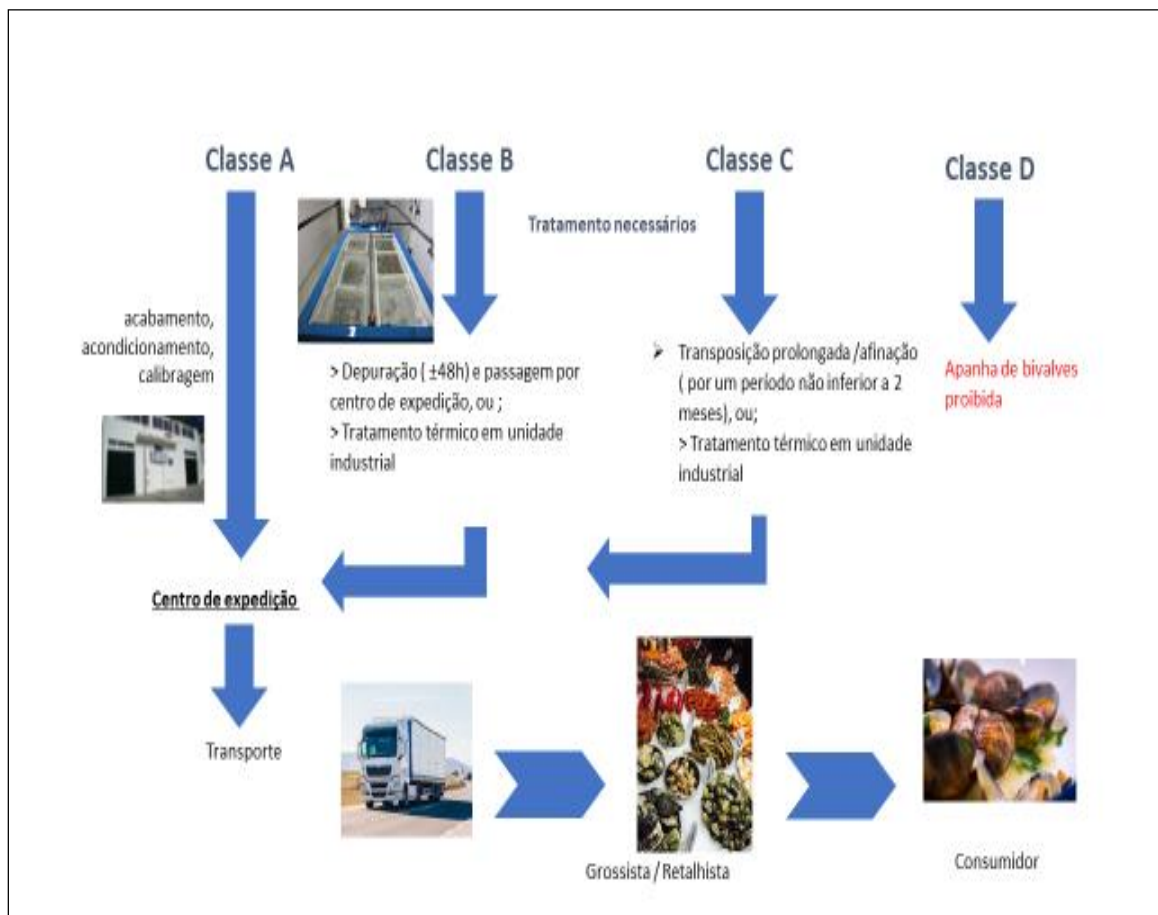
Classes	Níveis <i>E.coli</i>	Destino Final
A	Um resultado em cinco amostras (n=1) pode ser superior a 230 NMP <i>E.coli</i> /100g, não excedendo os 700 NMP <i>E.coli</i> /100g	Centro de Expedição e Consumo Direto
B	Superior a 230 NMP <i>E.coli</i> /100g e inferior ou igual a 4600 NMP <i>E.coli</i> /100g em 90 % das amostras e nenhuma exceder 46 000 NMP <i>E.coli</i> /100g	Depuração, afinação ou transformação em unidade industrial
C	≤ 46 000 NMP <i>E.coli</i> /100g	Afinação prolongada ou transformação em unidade industrial

⁴ Zona de produção: qualquer parte de território marinho, lagunar ou estuarino que contém bancos naturais de moluscos bivalves ou áreas utilizadas para a cultura de moluscos bivalves, em que os moluscos bivalves vivos são colhidos

Os operadores das empresas do sector alimentar não poderão produzir nem apanhar MBV em zonas que as autoridades competentes não tenham classificado ou que não sejam adequadas do ponto de vista sanitário (zonas proibidas). Neste último caso, o teor de contaminação é $\geq 46\,000$ NMP *E.coli*/100g, podendo também ser designada por zona D, ou zona proibida.

Em Portugal, o circuito comercial deverá obedecer às etapas abaixo descritas (Figura 6). Importa referir que os MBV que sejam sujeitos a depuração ou transposição prolongada/afinação, têm de passar por um centro de expedição. Até a data, em Portugal, não está definida/licenciada qualquer zona de transposição prolongada/afinação pela autoridade competente.

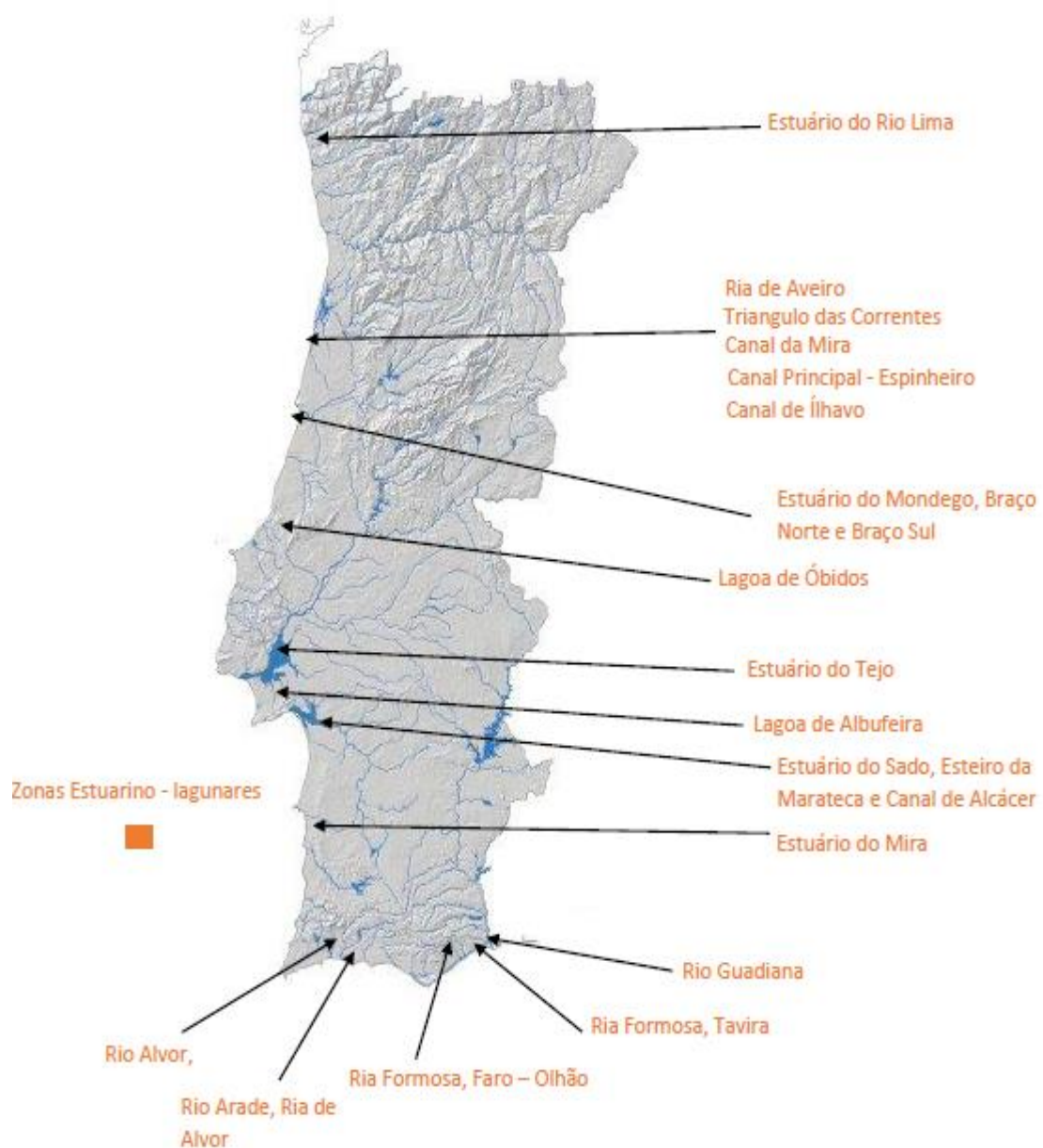
Figura 6 - Circuito comercial de moluscos bivalves vivos em Portugal



Além dos estabelecimentos acima identificados (Figura 6), (centro de expedição, centro de depuração, centro de afinação, transporte e grossista/retalhista), importa na cadeia de MBV considerar os depósitos de MBV, que são centros que carecem de licenciamento e onde é praticado a estabulação provisória dos bivalves, aguardando a entrada no circuito comercial

No território português existem as regiões estuarinas autorizadas para apanha e produção de bivalves e que estão distribuídas da forma que se ilustra na figura 7.

Figura 7 - Zonas estuarinas classificadas (Adaptado de IPMA,2017)



Quanto à classificação das zonas estuarinas de acordo com o IPMA, o estuário do Tejo é classificado como zona C, sendo, contudo, interdita a apanha de Lambujinha devido a presença de elevados teores de chumbo neste bivalve. Os MBV capturados nestas zonas, antes de colocados à disposição do consumidor, têm obrigatoriamente de ser sujeitos a uma afinação/transposição prolongada ou ser submetidos a um tratamento térmico industrial. Relativamente ao estuário do Sado, esta zona é classificada como classe B, podendo os MBV aqui capturados ser submetidos a um processo simples de depuração. No que diz respeito à Ria de Aveiro, a zona de captura é também classificada como classe B, excepto o Canal de Ílhavo, classificado como zona C.

3.2. Apanha de moluscos bivalves vivos

A apanha e manuseamento dos MBV não deve constituir um fator que contribui para um aumento da contaminação, não devem também provocar danos físicos às conchas ou tecidos dos MBV, pois caso ocorra, poderá afetar os MBV, bem com os tratamentos necessários para a sua possível entrada no circuito comercial, em especial no caso de os MBV sofrerem um tratamento por depuração ou afinação.

Assim, é de extrema importância que os MBV sejam protegidos da abrasão, esmagamento, não devendo também ser expostos a temperaturas que permitam o desenvolvimento de microrganismos.

3.3. Afinação/transposição prolongada de moluscos bivalves vivos

A afinação⁵ de moluscos bivalves vivos é obrigatória sempre que a apanha seja efetuada em zonas de classe C, só pode ser realizada em zonas de afinação⁶ aprovadas pela autoridade competente. Os limites das áreas devem ser claramente identificados por balizas, varas ou outros meios fixos; as zonas de afinação devem estar separadas entre si e das zonas de produção por uma distância mínima, de modo a reduzir o risco de disseminação de contaminação.

⁵ Afinação: transferência de moluscos bivalves vivos para zonas marinhas, lagunares ou estuarinas durante o tempo necessário para a eliminação dos contaminantes. Esta operação não inclui a operação específica de transferência dos moluscos bivalves para zonas mais adequadas para o seu posterior crescimento ou engorda

⁶ Zona de afinação: qualquer parte de território marinho, lagunar ou estuarino, claramente delimitada por boias, postes ou quaisquer outros meios fixos e utilizada exclusivamente para a depuração natural de moluscos bivalves vivos

As condições de afinação devem assegurar condições ótimas de depuração, devendo-se utilizar técnicas de manuseamento dos moluscos bivalves vivos destinados a afinação que permitam o reinício da alimentação por filtração após imersão em águas naturais.

O período de depuração deve ter pelo menos a duração de dois meses, salvo nos casos em que a autoridade competente autorizar um período mais curto, baseada na análise de risco do operador da empresa do sector alimentar.

De acordo com o estipulado no 5º do a do Capítulo II da Seção VII do Anexo III do Regulamento (CE) n.º 853/2004, é ainda permitido que os MBV da classe C, possam ser comercializados se forem sujeitos a transformação, transformação essa que obriga que no mínimo o processo envolva temperaturas entre 120°C e 160°C e uma pressão entre os 2 e os 5 kg/cm² por um período de não menos de 3 minutos.

3.4. Depuração de moluscos bivalves vivos

No que concerne a depuração⁷, obrigatória sempre que a apanha dos MBV seja efetuada em zonas de classe B, os MBV devem ser lavados em água limpa, de modo a retirar-lhes o lodo e os resíduos acumulados. A depuração deve ser imediata e deve permitir que os MBV não voltem a ser contaminados. Importa referir que a quantidade de MBV a ser depurados não deve exceder a capacidade dos tanques, pois deste modo a depuração poderá ser comprometida e não ser eficaz.

Os MBV sujeitos a depuração devem pertencer à mesma espécie e caso sejam juntos diversos lotes num só tanque de depuração, esta deve basear-se no princípio de que o tempo de depuração deverá ter em conta o lote que necessite o período de depuração mais longo. Estudos revelam que uma depuração de 48 horas é suficiente para eliminar a quase totalidade de *E.coli* (Freitas, Pinto, Sampaio, Costa, Rodrigues, Quintino & Figueira, 2012).

A depuração consiste na manutenção dos bivalves em água, durante um determinado período, com temperatura e salinidade controlada, ou em água do mar tratada por ozono, cloro ou radiações ultravioletas (Pedro & Silva, 2012).

É fundamental que aquando da depuração o operador económico tenha a certeza que os MBV que adquiriu provêm efetivamente de uma zona com Classe B, pois, caso não aconteça, os

⁷ Centro de depuração: estabelecimento que dispõe de tanques alimentados por água do mar limpa, nos quais os moluscos bivalves vivos são colocados durante o tempo necessário para reduzir a contaminação de forma a torná-los próprios para consumo humano

MBV sejam provenientes de zona Classe C, o processo de depuração poderá não ser suficiente para reduzir a carga microbiana das amêijoas, nomeadamente *E.coli*.

A eficácia da depuração depende em primeiro lugar do calibre dos bivalves, (Oliveira *et al.*, 2011). A quantidade e tipo de contaminação também influencia a depuração, pois bivalves mais contaminados, necessitam de mais tempo. Diferentes microrganismos respondem também de modo diferente ao processo de depuração (Oliveira *et al.*, 2011). Existem ainda outros fatores que podem influenciar o tempo de depuração como sejam a salinidade e temperatura da água.

Após a depuração os MBV têm obrigatoriamente de passar por um centro de expedição para poderem ser colocados a venda no mercado. No entanto, e de acordo com o estipulado no 5º do A do Capítulo II da Seção VII do Anexo III do Regulamento (CE) N.º 853/2004, é ainda permitido que os MBV da Classe B que não tenham sido sujeitos a depuração, possam ser colocados no mercado, após passagem por unidade de transformação que submeta os MBV a um tratamento que tenha como objetivo eliminar os microrganismos patogénicos. O tratamento tem de ocorrer em recipientes hermeticamente fechados, respeitando dois binómios, tempo mínimo 90 segundos e 90°C. Caso o processo não envolva água a ferver, o processo deve ser validado de forma a garantir que no centro dos MBV a temperatura atinga no mínimo 90°C durante 90 segundos.

3.5. Centros de expedição de moluscos bivalves vivos

O manuseamento dos moluscos bivalves vivos, em especial durante o acabamento, o acondicionamento, a calibragem e a embalagem não deve causar contaminação do produto nem afetar a viabilidade dos moluscos.

Antes da expedição, as conchas dos MBV devem ser cuidadosamente lavadas em água limpa⁸.

Os MBV têm que ser oriundos de uma zona de produção de Classe A, ou centro de depuração, zona de afinação ou ainda de outro centro de expedição.

⁸ Água limpa, água do mar limpa e água doce limpa, de qualidade semelhante

Durante a armazenagem no centro de expedição, é fundamental que os MBV não sejam sujeitos a temperaturas extremas (calor/frio) pois, isso caso aconteça, poderá comprometer a sua viabilidade.

3.5.1. Acabamento de moluscos bivalves vivos

O acabamento tem como principal objetivo melhorar as características organoléticas dos MBV, tais como o gosto e o cheiro, para além de que os MBV têm de apresentar boas condições de frescura e viabilidade, incluindo conchas isentas de sujidade, uma reação adequada à percussão e quantidades normais de líquido intervalar.

3.5.2. Armazenagem de moluscos bivalves vivos

Nesta etapa do processo, deve-se ter cuidado com a manipulação dos MBV, sobretudo para garantir que a sua viabilidade não é afetada e, garantir que o acabamento não constitui uma fonte de contaminação.

Os moluscos bivalves vivos também não devem ser expostos a temperaturas extremas, como calor ou frio extremo que podem comprometer a sua viabilidade e potencialmente originar um produto não seguro.

3.5.3. Requisitos legais para colocação no mercado de moluscos bivalves vivos

Os MBV, só podem ser disponibilizados para venda ao consumidor final, após terem passado por um centro de expedição⁹, centro este que aplica a marca de identificação (número de aprovação do estabelecimento ou número de controlo veterinário) nas embalagens, devendo este cumprir os requisitos gerais de higiene descritos no Regulamento (CE) n.º 852/2004, bem como os requisitos específicos do Regulamento (CE) n.º 853/2004.

O centro de expedição é o responsável pela colocação dos MBV à disposição dos consumidores, pelo que só poderá aceitar MBV que cumpram os requisitos em termos de rastreabilidade; caso os MBV sejam oriundos de uma área de produção, deve dispor de documento de registo que contenha as seguintes informações:

- A identidade e o endereço do produtor;
- A data da apanha;

⁹ Centro de expedição: estabelecimento terrestre ou flutuante reservado à receção, ao acabamento, à lavagem, à limpeza, à calibragem, ao acondicionamento e à embalagem de moluscos bivalves vivos próprios para consumo humano

- A localização da zona de produção, descrita o mais pormenorizadamente possível ou através de um número de código;
- O estatuto sanitário da zona de produção;
- A indicação das espécies de moluscos e sua quantidade;
- O destino do lote.

Caso os MBV sejam oriundos de centro de depuração, acrescem às indicações supramencionadas as seguintes:

- O endereço do centro de depuração;
- O período de depuração;
- As datas de entrada e de saída do lote do centro de depuração.

Caso os MBV sejam oriundos de centro de afinação, acrescem as seguintes indicações:

- A localização da zona de afinação;
- O período de afinação (Regulamento n.º 853/2004).

3.6. Regras de higiene aplicáveis aos moluscos bivalves vivos

Os centros de depuração e expedição, têm que cumprir os requisitos gerais de higiene para os operadores do sector alimentar. Tais requisitos estão descritos no Anexo II do Regulamento (CE) n.º 852/2004, bem como os critérios específicos estabelecidos nos Capítulos III, da seção VII do Anexo III do Regulamento (CE) n.º 853 / 2004.

Visto que se trata de um sector específico, os operadores têm que garantir que as instalações são mantidas em bom estado de conservação e limpas, de modo a minimizar qualquer risco de contaminação, os materiais utilizados na construção de edifícios, tanques de depuração e equipamentos devem resistir à água salgada e ao impacto físico, pelo que devem ser adequados a este tipo de utilização e ambiente. Os materiais utilizados e os tanques devem ser lisos, impermeáveis e fáceis de limpar.

Além dos aspetos mais técnicos supramencionados, é fundamental que exista também uma correta manutenção e que a limpeza/desinfecção seja adequada, que os funcionários tenham formação, que exista um sistema de controlo de pragas, plano de higiene adequado, bem como um controlo sobre a água. Os pré-requisitos assumem assim um aspeto fundamental para garantir que os MBV colocados à venda, sejam seguros e não sofram nenhuma contaminação.

Relativamente aos equipamentos utilizados, para escolha e separação de MBV, estes não devem danificar os MBV e não devem ser fonte de contaminação.

3.7. Transporte de moluscos bivalves vivos

Relativamente ao transporte de MBV, para ou a partir de um centro de expedição, deve ser realizado de modo a garantir que os MBV estejam o menor tempo possível nestas condições, pois, quando maior o tempo de transporte maior a suscetibilidade de afetar a viabilidade.

Outro fator a ter em linha de conta está relacionado com a temperatura, dois pontos críticos (tempo/temperatura) são fundamentais para garantir que os MBV são seguros, impedindo o desenvolvimento microbiano. Em condições secas o seu armazenamento deve ser feito a uma temperatura da ordem dos 4°C, (Anacleto *et al.*, 2013).

3.8. Requisitos aplicáveis aos moluscos bivalves vivos no retalho

Após a expedição dos MBV para a venda a retalho, estes não podem voltar a ser imersos ou pulverizados com água. Esta proibição encontra-se prevista no número 2 do Capítulo VIII da Seção VII do Anexo III do Regulamento (CE) N.º 853/2004, e reforçada no número 2 do Capítulo VI da Seção VII do Anexo III do aludido regulamento, fixando que todas as embalagens de MBV que saiam dos centros de expedição e se destinam à venda ao consumidor final devem ser fechadas e vendidas invioladas.

Significa que os restaurantes e outros retalhistas, não podem removê-los das embalagens e voltar a reemergir-los em aquários ou tanques. Estas questões estão relacionadas com a necessidade de garantir que os MBV não voltam a ser contaminados e garantir a sua rastreabilidade.

Os moluscos bivalves vivos podem ser colocados em tanques para fins de aquário de exibição ou para efeito decorativo, mas tais não poderão ser vendidos para consumo humano.

A venda direta ao consumidor final e comércio retalhista de produtos primários de origem animal sem cumprimento das regras fixadas no Regulamento n.º 853/2004 poderia ser prevista, desde que os Estados-Membros estabelecessem regras nacionais. No caso dos MBV, Portugal não usou dessa possibilidade de derrogação. De acordo com o disposto no número 2 do artigo 4º da Portaria n.º 74/2014 de 20 de março, relativa ao fornecimento direto ao consumidor final e ao retalho local de produtos de origem animal, é interdito o fornecimento

direto de qualquer quantidade de MBV pelo produtor/apanhador ao consumidor final, comércio ou retalho local que forneça diretamente o consumidor.

4. Amêijoa-japonesa no estuário do Tejo

O estuário do Tejo localizado na costa portuguesa é um dos maiores estuários da Europa e o maior português, cobrindo cerca de 325 km², desde a embocadura até Vila Franca de Xira, zona limite da salinidade em condições hidrológicas normais.

O estuário do Tejo desempenha um papel fundamental na conservação da natureza e biodiversidade, tendo também um papel crucial na economia, sobretudo no que diz respeito à pesca.

É sabido que o aumento da quantidade de amêijoa-japonesa, foi coincidente com uma redução significativa da amêijoa-boia, não se sabendo em concreto o que levou à redução da amêijoa-boia. Existem duas hipóteses possíveis, ou um excesso de apanha desta amêijoa, levando a que exista um aumento população da amêijoa-japonesa, ou, devido à competição entre estas duas espécies. A amêijoa-japonesa tem como maior habitat o estuário do Tejo, sendo facilmente visível aquando da baixa-mar o número de apanhadores que se dirigem para a apanha deste MBV.

Com a publicação da Portaria n.º 1228/2010, de 6 de dezembro, na qual *Ruditapes spp.*, surge na lista de espécies animais marinhas de possível de apanha, juntamente com o facto da publicação da Portaria n.º 85/2011, de 25 de fevereiro, proibir a apanha da amêijoa-boia (*R. decussatus*) com berbigoeiro as atenções voltaram-se para a amêijoa-japonesa. Esta portaria define também um plano de exploração da amêijoa-japonesa e a interdição da devolução ao meio natural deste bivalve em zonas que não sejam a sua área de distribuição do estuário do Tejo.

De acordo com um artigo publicado no jornal Público (de 6 de janeiro de 2018), a Guarda Nacional Republicana (GNR) procedeu á apreensão de 87 toneladas de amêijoa-japonesa no ano de 2017 e destas 87 toneladas, 55 foram apreendidas no estuário do Tejo. No ano de 2016 foram apreendidas 147 toneladas, sendo que fazendo a soma dos últimos 5 anos, a GNR apreendeu a um total de 406 toneladas de amêijoa-japonesa.

A apanha ilegal da amêijoa japónica representa cerca de 90 % de todo o total da apanha, sendo que muita dela tem como destino Espanha (Chiesa *et al.*, 2016).

4.1. Contexto social económico

A crise social e económica vivida nos últimos anos em Portugal, provocou um aumento do número de desempregados, aliado ao aumento da quantidade de amêijoa-japonesa disponível para a apanha, bem como o aumento da procura pelo consumidor, terão sido fatores determinantes para o aumento do número de apanhadores, quase todos eles ilegais (sem licença para a apanha). Assiste-se, por isso a um incremento desta atividade, originando uma economia paralela associada à amêijoa-japonesa.

Sabe-se que a amêijoa-japonesa tem sido o “ganha-pão” de diversas famílias, sendo muitas vezes a única forma de subsistência. Para além dos desempregados de nacionalidade portuguesa verifica-se igualmente a presença de estrangeiros a grande maioria tem origens no leste Europeu, em países como Ucrânia, Roménia, bem como a Tailândia, que se dedicam a esta atividade como fonte de rendimento.

Outro aspeto importante está relacionado com a economia paralela, existindo diversos intermediários que procedem à compra destes bivalves e que os comercializam a restaurantes, ou reencaminham para Espanha, sendo todo este circuito realizado de forma ilegal, não existindo documentos associados aos bivalves, ou seja, sem qualquer tipo de evidência de controlo sanitário.

A economia paralela baseada na comercialização destes MBV incrementou uma série de novos negócios, tais como oficinas de reparação das embarcações que se dedicam ao comércio da amêijoa-japonesa; aluguer de barcos para transporte dos mariscadores, que frequentemente ultrapassam o limite da lotação permitida, aluguer de armazéns que são usados como habitação, bem como o fabrico dos utensílios necessários a apanha da amêijoa, como a ganchorra.

4.2. Depuradoras e centro de depósitos não licenciados

Associada a esta apanha “ilegal” existe, como referido, todo um mercado paralelo (usado como fonte de rendimento), nomeadamente os centros de depuração e os depósitos/armazéns não licenciados.

Os proprietários destes tipos de estabelecimentos operam na clandestinidade, sem que os centros de depuração e ajuntamento (depósito) estejam devidamente licenciados (Figura 8 e 9) e sem que haja controlo das Autoridades Competentes, nomeadamente a Direção-Geral

de Alimentação e Veterinária (DGAV) e Direção-Geral de Recursos Naturais, Segurança e Serviços Marítimos (DGRM).

De salientar que a falta de licenciamento exigido para este tipo de atividade está prevista na alínea b) do n.º 4, do art.º 35 do Decreto-lei 40/2017 de 4 de abril, e punível de acordo com a alínea a) do n.º 3 do art.º 46 do mesmo Decreto-Lei, com coimas compreendidas entre 6.000 e 60.000 €.

Além da falta de licenciamento, infração devidamente tipificada, existe também associada uma clara falta de cumprimento dos critérios gerais de higiene descritos no Regulamento (CE) n.º 853/2004, nomeadamente no que concerne aos pré-requisitos e plano baseado nos princípios do HACCP.

Figura 8 - Depuradora não licenciada (fotografia gentilmente cedida pela ASAE, tirada durante uma ação de fiscalização, 2017).



Figura 9 - Depuradora não licenciada (fotografia gentilmente cedida pela ASAE, tirada durante uma ação de fiscalização, 2017).



Importa referir que, no que concerne aos MBV encontrados nestas condições, se não for possível determinar com precisão a origem dos mesmos, ou existam incertezas sobre a saúde pública ou animal, os MBV devem ser encaminhados como subprodutos, cumprindo regras definidas no Regulamento (CE) n.º 1069/2009. Caso contrário, poderão ser devolvidas ao meio natural.

5. Segurança sanitária dos moluscos bivalves vivos produzidos em zonas estuarinas portuguesas e respetivo controlo oficial

5.1. Justificação do trabalho

O facto de, no âmbito do Plano Nacional de Colheita de Amostras, se ter verificado nos últimos anos um aumento da incidência de resultados insatisfatórios relativamente ao teor de *E.coli* em amostras de MBV colhidas no retalho (nomeadamente restaurantes), associado à possibilidade de comercialização ilegal (sem passagem obrigatória pelos centros de expedição, depuração e afinação), bem como o facto de se tratar de um problema de saúde pública são as razões que explicam escolha deste estudo. De salientar que existem resultados analíticos que confirmam a contaminação muito elevada dos MBV por *E.coli*, sendo que em certos casos existem teores que refletem que a apanha foi mesmo realizada em zonas proibidas (não classificadas), ou seja, em que o teor excede o máximo permitido legalmente: 46.000 NMP *E.coli*/100g.

De notar que quase toda a totalidade de amêijoas retratada neste estudo caso, estava disponível para o consumidor final, sobretudo em restauração.

Os fatos acima mencionados, aliados também ao impacto socioeconómico que este tipo de atividade (apanha ilegal) representa para o nosso país, foram fundamentais para a escolha deste tema.

Este estudo vem demonstrar a importância que os planos oficiais de controlo desempenham na defesa da saúde humana, dando assim cumprimento ao estabelecido no Regulamento (CE) n.º 882/2004.

5.2. Material e métodos

Os dados em análise foram exclusivamente obtidos através de informação contida no PNCA da ASAE. O PNCA é um plano de vigilância que é efetuado pela ASAE desde o ano de 2007. Este plano foi concebido tendo em conta os princípios gerais relativos à organização dos controlos oficiais levados a cabo pelos Estados-Membros, conforme o disposto no Regulamento n.º 882/2004 de 29 de abril. Este plano tem como objetivo de assegurar e verificar que os géneros alimentícios colocados a disposição dos consumidores, não colocam em risco a saúde pública, ou seja, verificar se os géneros alimentícios cumprem com os requisitos comunitários e nacionais exigidos através da respetiva legislação. Além destas questões, este plano permite também salvaguardar os interesses dos consumidores, no que diz respeito a correta e adequada informação ao consumidor, garantido deste modo que existem práticas leais de informação (rotulagem, indução em erro e práticas fraudulentas).

O PNCA tem por base uma análise de risco, ou seja, é assente em critérios de risco, conforme definido no Regulamento (CE) n.º 882/2002 da Comissão, de 28 de maio. Para além dessa análise, este plano é igualmente planeado conforme a sazonalidade dos produtos, indicadores de consumo, incluindo novas tendências alimentares e ainda com base no histórico, ou seja, resultados insatisfatórios por grupos de géneros alimentícios, bem como por incumprimentos dos operadores económicos.

Este plano é coordenado pela Divisão de Riscos Alimentares da ASAE, sendo que as análises são efetuadas no laboratório de microbiologia da ASAE. De salientar que este laboratório têm os ensaios analíticos acreditados pelo Instituto Português de Acreditação (IPAC), conforme estipulado pelo Regulamento (CE) n.º 882/2004.

O objetivo deste estudo está sobretudo assente na avaliação dos dados microbiológicos, com base nos critérios microbiológicos estipulados no Regulamento (CE) n.º 2073/2005.

Estes dados são referentes aos anos 2013, 2014, 2015 e 2016 e os dados dizem respeito ao grupo alimentar do pescado e MBV. O método usado para tratamento dos dados, foi baseado em folha de calculo (Excel).

5.3. Colheita de amostras

A colheita de amostras assume um papel fundamental, pois se não for devidamente executada, os resultados não serão representativos. Conforme o disposto no Regulamento (CE) n.º 882/2004, as colheitas de amostras devem ser realizadas por pessoas com formação técnica específica. Os técnicos de colheita de amostras da ASAE cumprem estas exigências, pois além da sua experiência de longos anos, têm também formação anual e dispõem de um manual de procedimentos.

Sempre que ocorre uma colheita de amostras, os técnicos preenchem um auto, documento que serve para a identificação do responsável do estabelecimento, bem para a caracterização de outros elementos fundamentais, como o tipo de estabelecimento, registro, localização, responsável por colocar o género alimentício no mercado/distribuidor.

Todas as amostras colhidas no âmbito desta dissertação são amostras únicas (sem duplicado e triplicado), não havendo por isso a possibilidade de contra-análise, os técnicos responsáveis pela colheita, informam os operadores económicos de que podem nomear consultor técnico /perito para assistir aos ensaios no laboratório da ASAE.

Em relação ao transporte das amostras, estas são efetuadas a temperaturas de refrigeração de modo a que durante o transporte o desenvolvimento microbiano seja controlado. Importa referir que existe monitorização da temperatura através da colocação de um *data logger* junto às amostras.

5.4. Método analítico para quantificação de *Escherichia coli*

Nesta dissertação, os dados obtidos (resultados analíticos) foram estudados antes da entrada em aplicação do Regulamento (UE) n.º 2015/2285 da de 8 de dezembro, ou seja, tendo como teor máximo permitido os 230 NMP *E.coli*/100g.

No início do ano de 2017, entrou em aplicação uma alteração ao Regulamento n.º 2073/2005, passando a existir a possibilidade de um dos cinco exemplares da amostra poder conter um teor de *E.coli* entre os 230 os 700 NMP *E.coli*/100g.

De acordo com o referido regulamento, esta alteração teve em conta as divergências que surgiam no comércio internacional e, por a abordagem do *Códex Alimentarius* ter sido considerada cientificamente mais precisa.

A técnica do número mais provável NMP *E.coli*/100g com base na ISO 16649-3, deve ser usada para todas as amostragens oficiais de controlo (para a monitorização de classificação ou de qualquer verificação de amostragem do produto final realizado pela autoridade competente). O Regulamento (CE) N.º 2073/2005 permite, contudo, a utilização de métodos analíticos alternativos quando são validados em função do método de referência de acordo com a ISO 16140 “Protocolo para a validação de métodos alternativos” ou outro protocolo semelhante internacionalmente aceite.

5.5. Resultados

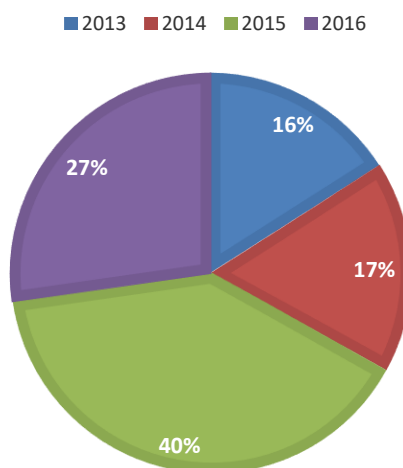
Os dados apresentados dizem respeito aos resultados obtidos nas amostras de MBV colhidas pela ASAE, no âmbito do plano de vigilância/monitorização PNCA. Neste grupo de géneros alimentícios, entre 2013 e 2016, foram colhidas e analisadas microbiologicamente 433 amostras (tabela 10).

Tabela 10 - Número total de amostras de MBV Colhidas 2013-2016

Anos	Total amostras
2013	69
2014	74
2015	172
2016	118
Total	433

De notar, que em 2016, o número de amostras colhidas foi ligeiramente inferior comparativamente a 2015, pelo facto de terem ocorrido mudanças na estratégia de atuação da ASAE, em resultado do número elevado de não conformidades recorrentes, e da necessidade de intervenção por parte da inspeção na tentativa de combater as causas subjacentes a estes resultados, passando a colheita de amostras de MBV a serem realizadas no âmbito da inspeção.

Figura 10 - Percentagem de amostras de MBV colhidas face ao total de amostras do grupo do Pescado no âmbito do PNCA durante o quadriénio 2013-2016



No que diz respeito a percentagem de amostras de MBV colhidas em função do grupo de géneros alimentícios (pescado), verificou-se que 2015 apresentou um total de 40% face ao total e em 2016 com 27 %.

Como se pode verificar existiu um aumento do número de amostras (tabela 10) entre o ano 2014 e o ano de 2015. Este aumento deveu-se, como referido, ao aumento da percentagem de amostras não satisfatórias, tendo sido mesmo considerado prioritário a colheita de amostras de amêijoa japonesa e amêijoa-boa, não só por questões de segurança alimentar, mas também pelo aumento da sua disponibilidade no retalho.

Tabela 11 - Distribuição das principais espécies analisadas, no âmbito do PNCA, período 2013-2016

Espécies	2013	2014	2015	2016	Total
Amêijoa-japonesa	15	6	81	38	140
Amêijoa-boa	23	14	46	41	124
Ostra	15	20	12	9	56
Mexilhão	5	12	9	5	31
Amêijoa-branca	1	2	6	2	11
Lambujinha	3	4			7
Berbigão	2	3		2	7
Amêijoa-real	1	1	2		4
Amêijoa-macha		1	2	1	4
Total	69	74	172	118	433

Relativamente às espécies de MVB sujeitas a análise, verifica-se que a amêijoia-japonesa foi o produto analisado com maior frequência, com um total de 140 amostras. Este fato está intrinsecamente ligado à elevada disponibilidade deste bivalve no mercado retalhista com suspeita de introdução do mercado por via ilegal, sem cumprimento da obrigatoriedade da sua passagem por um centro de expedição e/ou depuração e/ou afinação.

A amêijoia boa, com 124 amostras analisadas ao longo do quadriénio, é a segunda espécie mais analisada. Esta espécie foi também alvo de um controlo orientado, sobretudo por existirem suspeitas de serem igualmente disponibilizadas ao consumidor final sem passar por centros de expedição ou depuração.

A ostra surge em terceiro lugar com 56 amostras. Esta espécie que, por norma, é consumida crua, ou com um processamento térmico muito reduzido, podendo acarretar risco elevado para a saúde humana, foi incluído no plano de modo a verificar a sua conformidade legal.

Na tabela 12, podemos observar o número de amostras cujo resultado foi insatisfatório no que concerne ao teor de *E.coli*.

Das amostras colhidas, 12 não foram analisadas (amostras prejudicadas) por motivo de falta de viabilidade dos MBV à chegada ao laboratório.

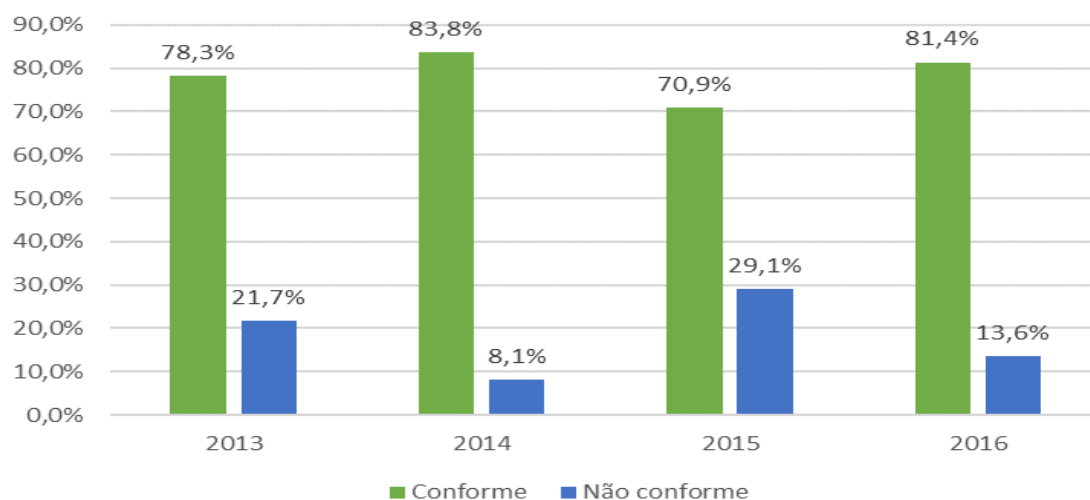
Tabela 12 - Amostras conformes e não conformes grupo MBV, 2013 a 2016

Anos	Conforme	Não conforme	amostra prejudicada	Total Geral
2013	54	15		69
2014	62	6	6	74
2015	122	50		172
2016	96	16	6	118
Total	334	87	12	433

Relativamente aos valores médios anuais de resultados insatisfatórios detetados nos MBV (87 amostras) é importante compará-los com os valores médios detetadas no quadriénio de forma a entender a sua variação. Neste contexto, conforme se pode verificar no gráfico n.º 1,

o valor máximo obtido entre 2013 e 2016 foi de 29 % de resultados não conformes no âmbito do PNCA, seguido do ano de 2013 com uma taxa de incumprimento de 21,7 %.

Gráfico 1 - Percentagem de resultados satisfatórios e insatisfatórios relativamente ao quadrénio 2013-2016



Esta incidência que é na ordem dos 21%, é preocupante quando comparada com a percentagem média (8%) de resultados insatisfatórios detetadas no âmbito do PNCA ao longo do espaço temporal 2009-2016, (gráfico 2).

Gráfico 2 - Percentagem de resultados insatisfatórios PNCA 2009-2016

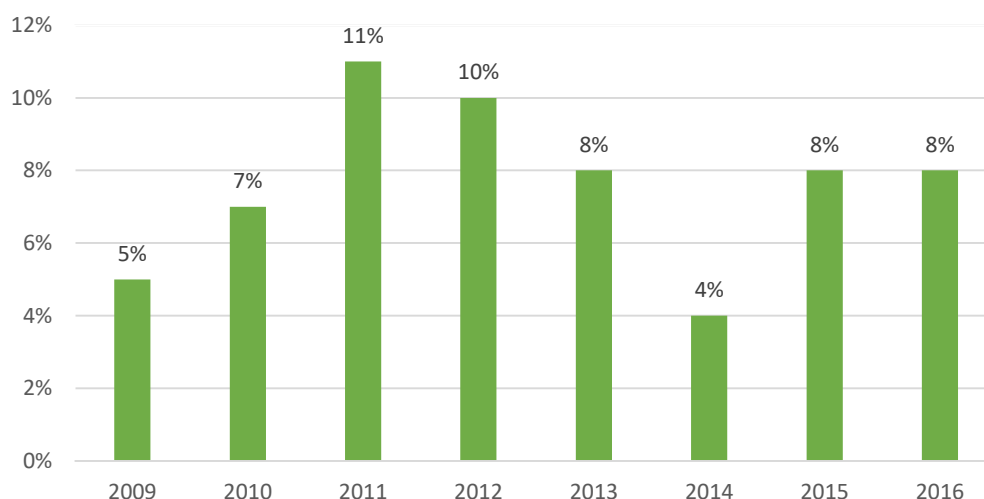
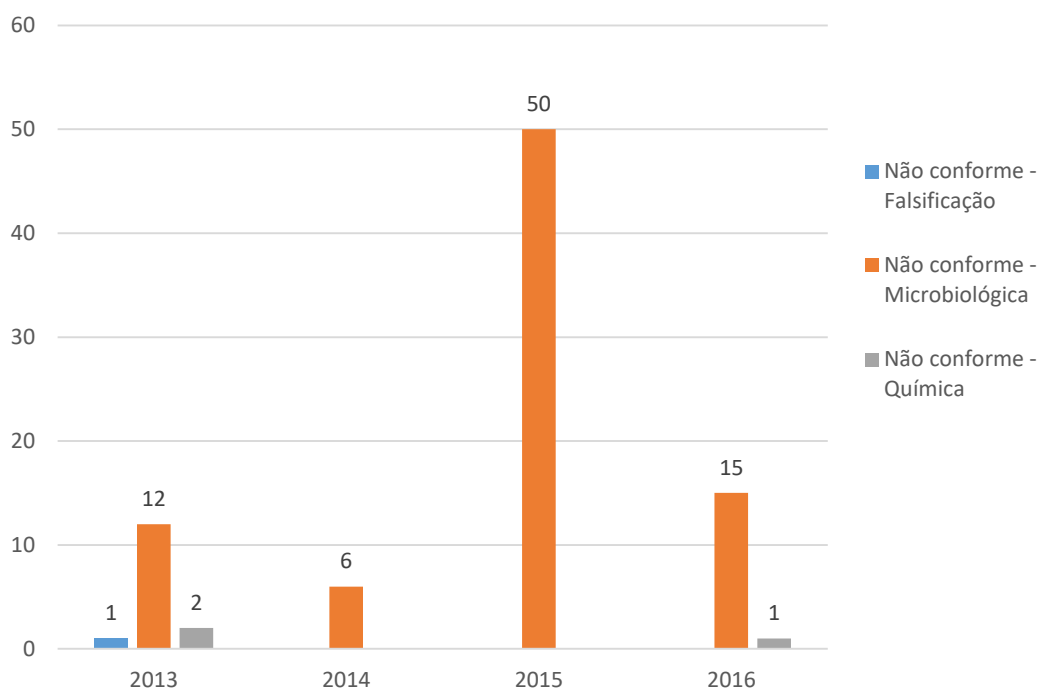


Gráfico 3 - Causas de resultados insatisfatórios no quadrénio 2013-201, PNCA



Das 421 amostras de MBV analisados, 87 apresentaram resultados insatisfatórios, destes no ano de 2015, 50 amostras apresentaram resultados insatisfatórios. Todas estes resultados dizem respeito a análises microbiológicas. O ano de 2016 apresentou 15 resultados insatisfatórios por causas microbiológicas e 1 de origem química.

Relativamente ao tipo de ensaio efetuado (microbiológico/químico), verificou-se que foram os ensaios microbiológicos que apresentaram maior percentagem de não conformidades, representando 95% das não conformidades.

De realçar que no ano de 2013 constatou-se uma falsificação, que se deve à venda de uma espécie por outra, ou seja, amêijoia-japonesa, que estava a ser comercializada como amêijoia-bou.

Figura 11 - Percentagem de resultados insatisfatórios face aos resultados analíticos

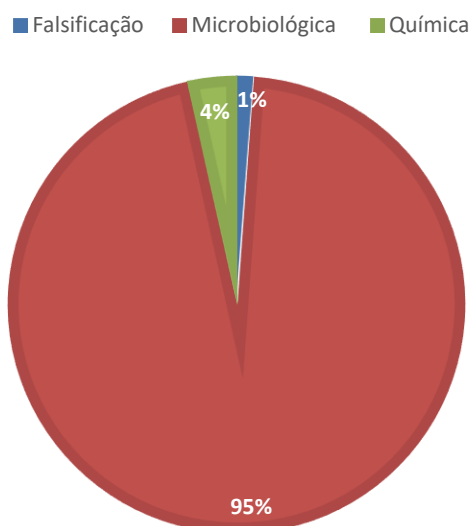
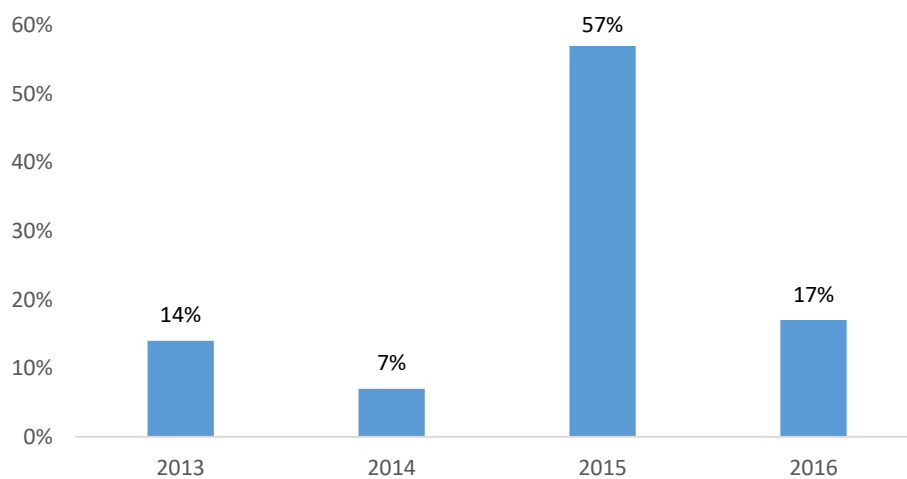


Gráfico 4 - Percentagem de resultados insatisfatórios de origem microbiológica por ano

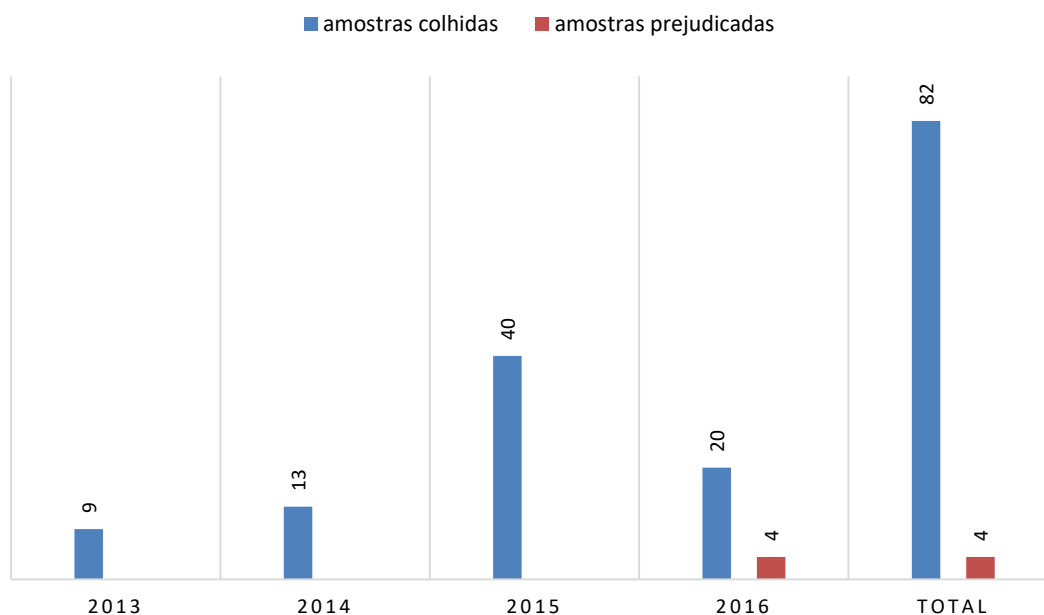


Relativamente à percentagem de resultados microbiologicamente “não conformes” por ano, verificou-se que no ano de 2015, 57% dos MBV sujeitos a análise microbiológica, apresentaram resultados insatisfatórios, seguido pelo ano de 2016 com 17%.

5.5 Dados de contaminantes químicos em moluscos bivalves vivos

No âmbito do PNCA, de modo a verificar a conformidade das amostras de MBV face ao Regulamento (CE) n.º 1881/2006, foram analisadas no laboratório de físico-química da ASAE 82 amostras de MBV, sendo que 4 das amostras não foram sujeitas a análise devido à falta de viabilidade no início do ensaio.

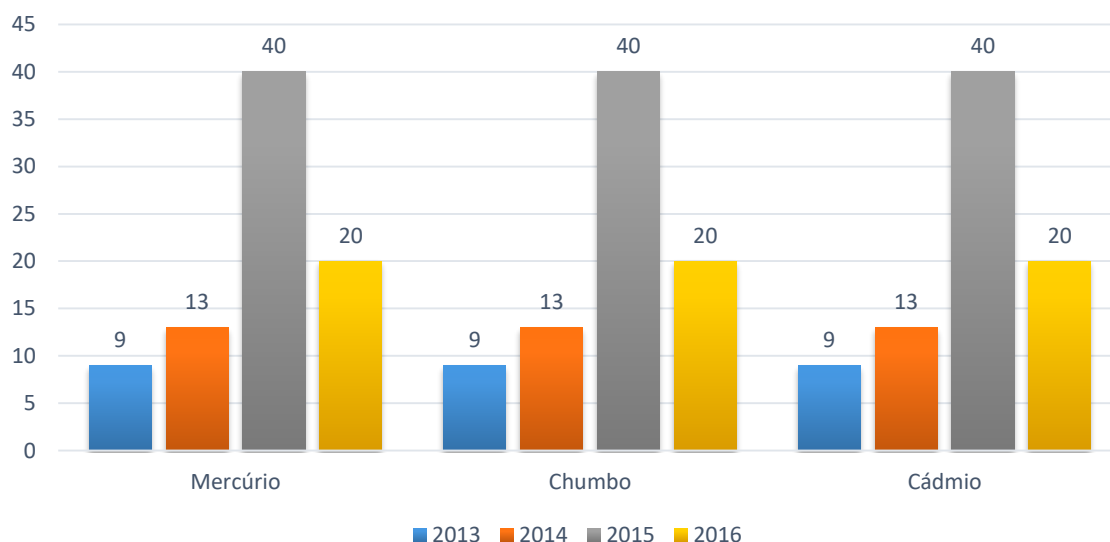
Gráfico 5 - Número de amostras analisadas no âmbito do controlo de contaminantes químicos



Destacou-se mais uma vez em 2015 o número de análises químicas efetuadas aos MBV, com 40 amostras analisadas ao longo do quadriénio em estudo (gráfico 6).

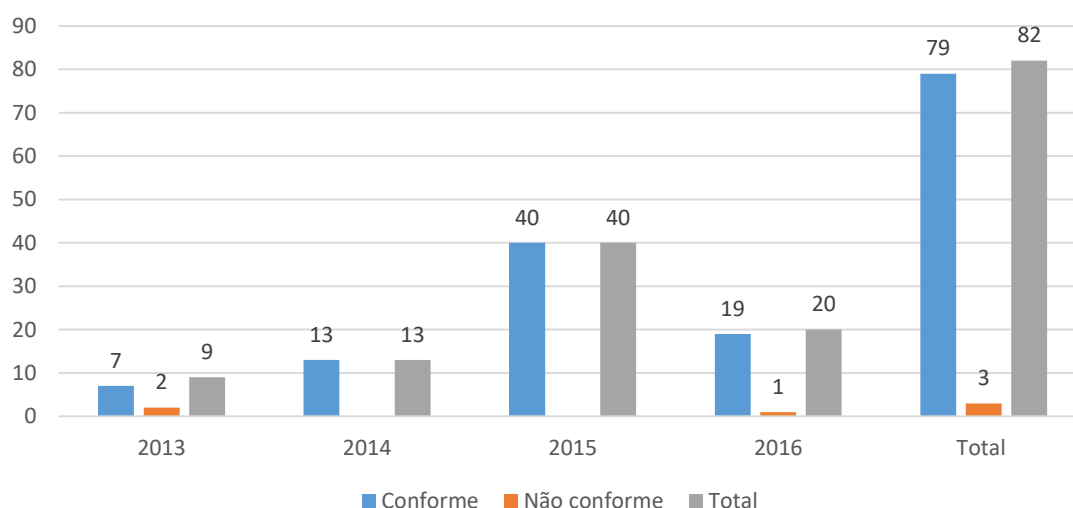
Relativamente aos ensaios realizados, estes recaíram sobretudo na avaliação de conformidade das mesmas relativamente aos limites máximos de resíduos (LMR) dos metais pesados (mercúrio, chumbo e cádmio), tendo sido realizadas no total 246 análises químicas.

Gráfico 6 - Distribuição de análises efetuadas a metais pesados (mercúrio, chumbo e cádmio) em MBV, no quadriênio 2013-2016



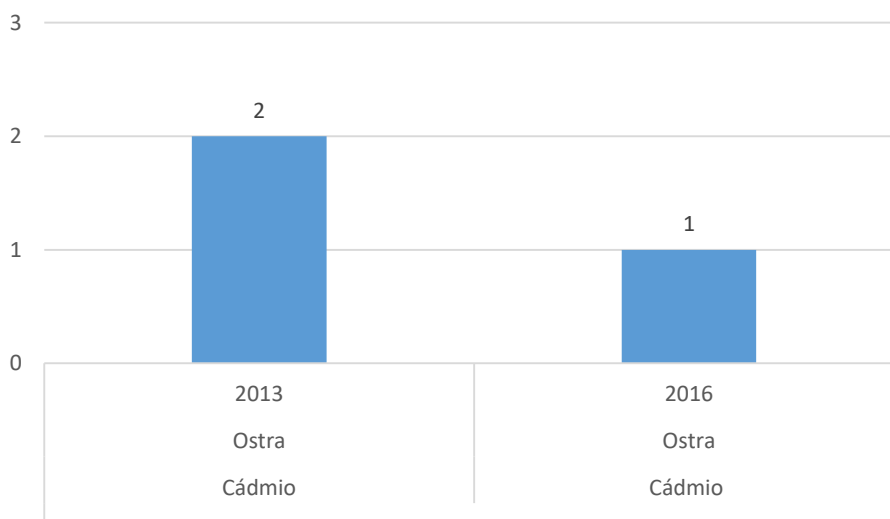
Relativamente à conformidade dos resultados, verificou-se nas 82 amostras analisadas, que 3 apresentaram teores de metais pesados superiores ao limite estipulado, tendo correspondido a 3,6 %, de não conformidades do quadriênio em estudo (gráfico 7).

Gráfico 7 - Resultados conformes e insatisfatórios de MBV para quantificação de metais pesados, no quadriênio 2013-2016 no âmbito do PNCA



No gráfico 9, interessa referir que as 3 amostras com resultados insatisfatórios, esse fator, ficou a dever-se à quantificação de cádmio, 2 amostras referentes ao ano de 2013 e 1 referente ao ano de 2016.

Gráfico 8 - Resultados insatisfatórios de cádmio em ostra



Relativamente aos resultados não conformes verificou-se que a ostra foi a única espécie que apresentou valores recorrentes de concentrações de cádmios superiores ao LMR (gráfico 8).

5.6 Apresentação de dados de amêijoa-boia

Face aos resultados globais tornou-se importante comparar os resultados das espécies com maior relevância em termos de amostragem. Por isso, de seguida são apresentados os resultados referentes as espécies amêijoa-boia e amêijoa-japonesa.

A amêijoa-boia (*Ruditapes decussatus*) é uma das espécies mais abundantes nos estuários portugueses, e de grande preferência por parte dos consumidores. O seu valor comercial é por norma superior ao valor da amêijoa-japonesa.

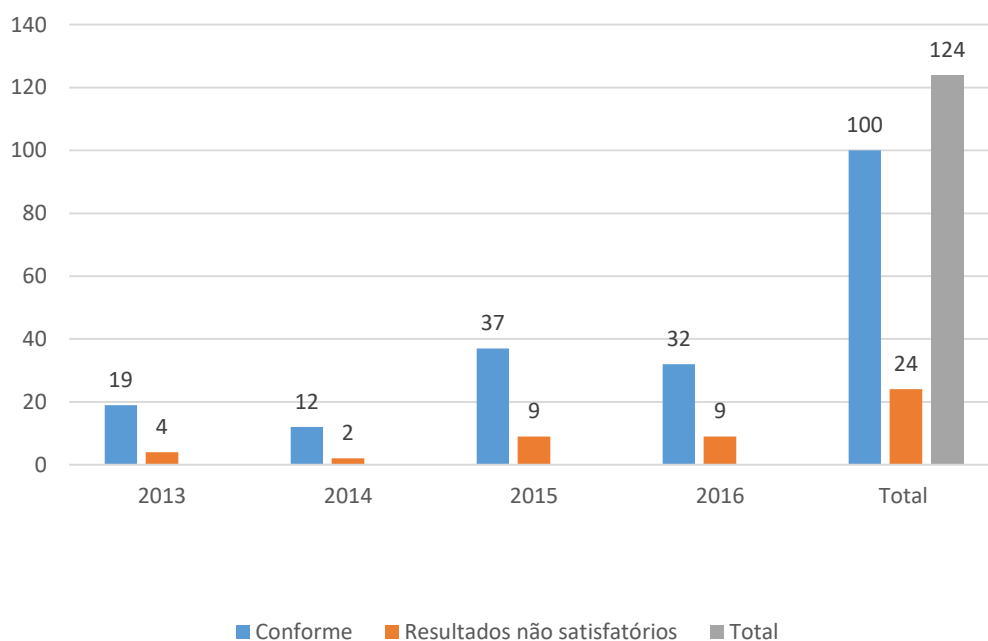
Tendo em conta esta realidade foram colhidas e analisadas, no âmbito do PNCA, ao longo dos 4 anos deste estudo 124 amostras deste bivalve, de acordo com a distribuição verificada na tabela 13.

Tabela 13 - Amostras colhidas de amêijoa-boia no âmbito do PNCA, quadriênio 2013-2016

Anos	Número de amostras colhidas
2013	23
2014	14
2015	46
2016	41
Total Geral	124

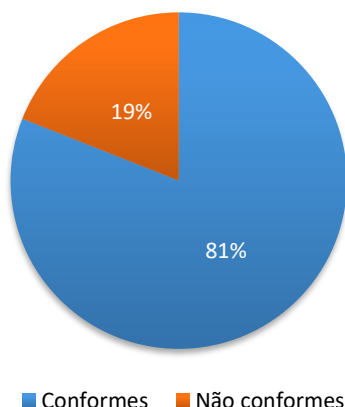
No que concerne ao número de amostras cujos resultados se apresentaram não conformes ao estipulado legalmente, verificou-se a distribuição de acordo com o gráfico nº 9.

Gráfico 9 - Número de amostras conformes e com resultados insatisfatórios de amêijoa-boia PNCA, quadriênio 2013-2016



Num universo de 124 amostras de amêijoa-boia analisadas, 24 amostras apresentaram resultados não satisfatórios, o que correspondeu a 19% (figura 12) de resultados insatisfatórios.

Figura 12 - Percentagem de conformidades e de resultados insatisfatórios amêijoa-boia

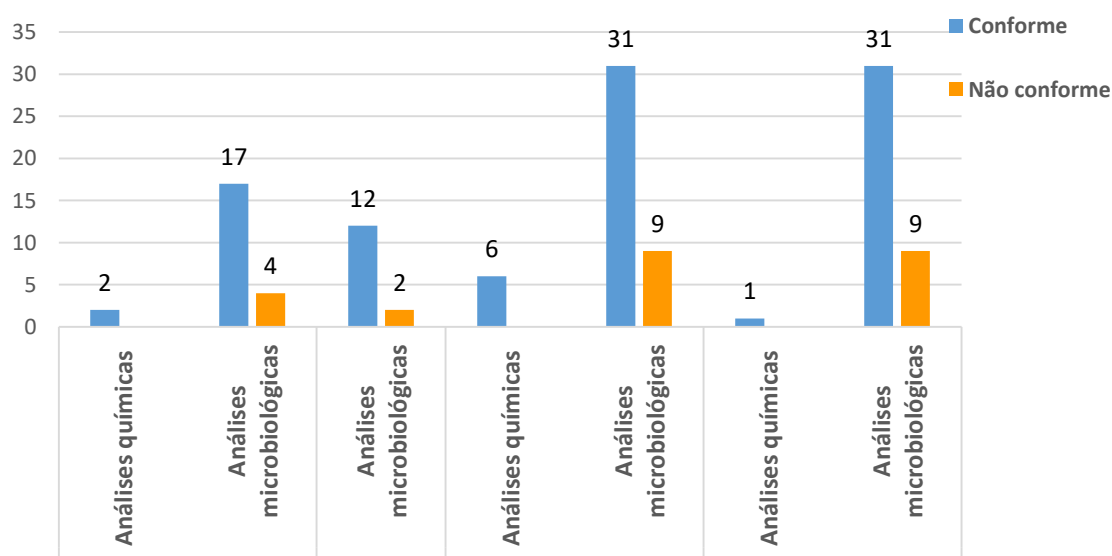


A amêijoa boa foi sobretudo analisada microbiologicamente ao longo dos anos 2013 a 2016, tendo sido pesquisadas, no âmbito do controlo de contaminantes químicos, os metais pesados - chumbo, cádmio e mercúrio, somente 3 amostras (gráfico 11).

Este reduzido número de ensaios a metais pesados em MBV é resultante da dificuldade de encontrar no mercado retalhista dimensão de amostra suficiente para realização dos ensaios, pois o regulamento prevê uma toma de 1 kg de miolo de bivalve, sendo a quantidade indicada difícil de reunir num único lote e no mesmo operador económico.

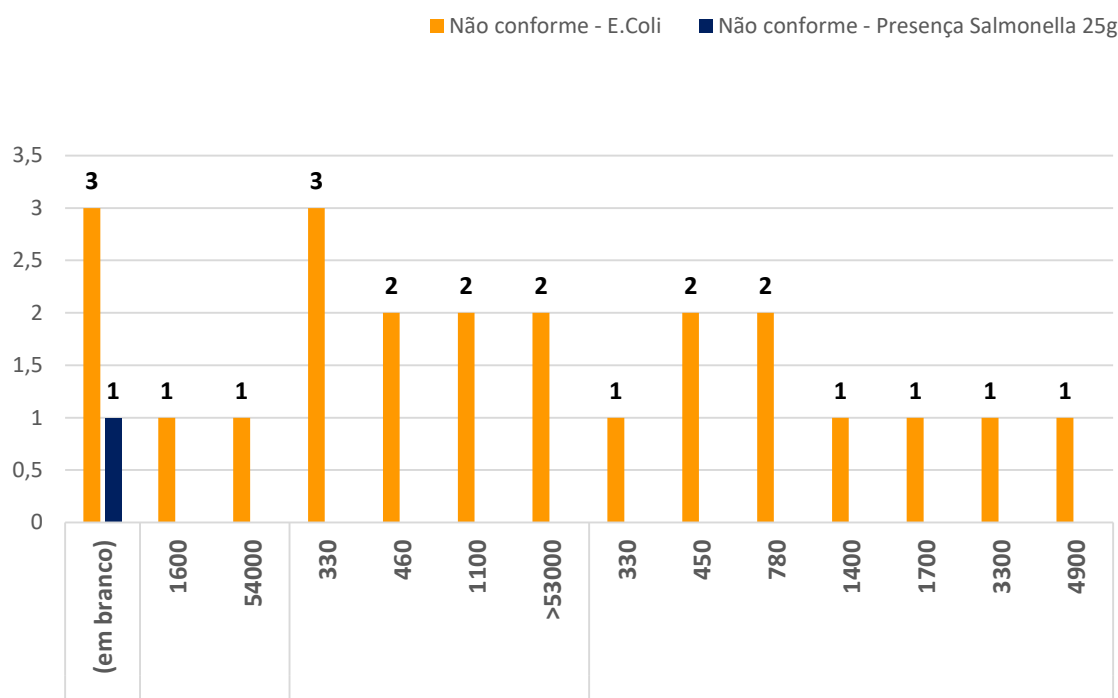
Há, no entanto, uma salvaguarda no controlo de metais pesados em MBV's, pelo facto do IPMA garantir, a sua realização no âmbito dos seus controlos oficiais.

Gráfico 10 Matriz de análises efetuadas amêijoa-boia e resultados analíticos.



Dos dados supramencionados constatou-se que os resultados insatisfatórios ocorreram somente em análises microbiológicas, tendo-se destacado os anos de 2015 e 2016 com cerca de 23 % de resultados insatisfatórios.

Gráfico 11 - Resultados quantitativos insatisfatórios em amêijoas expressos em NMP *E.coli*/100g



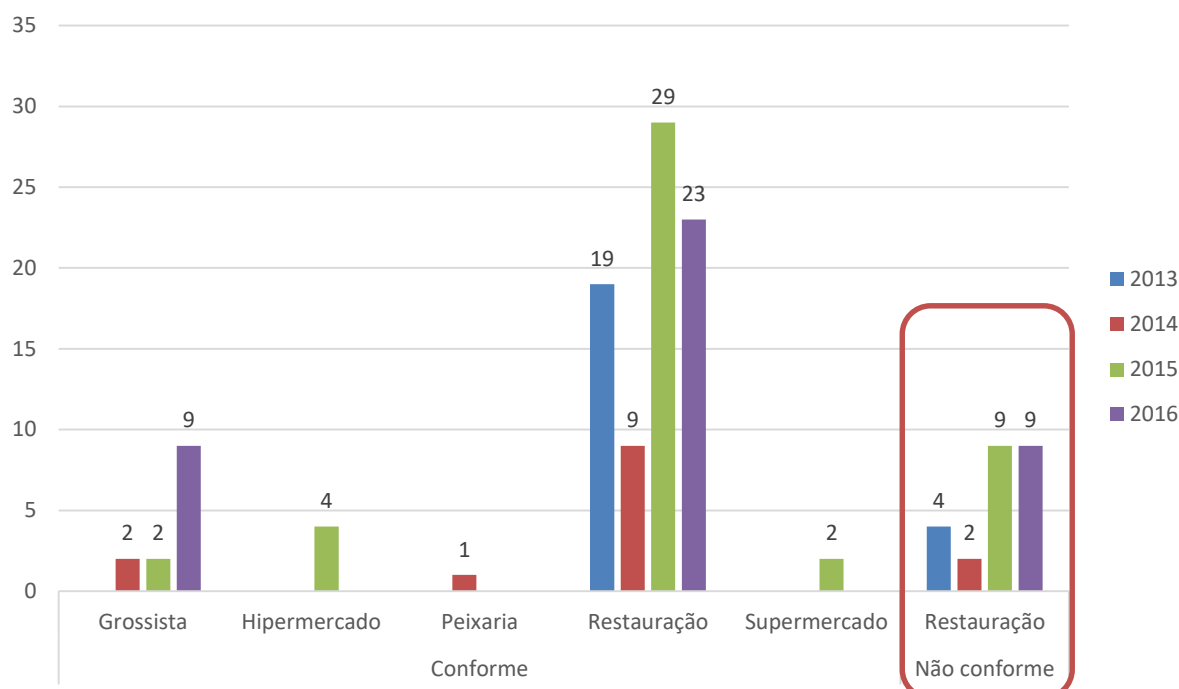
No que diz respeito aos dados que constam no gráfico n.º 13 este descreve os valores relativos ao número mais provável de *E.coli* por 100g de amostra, detetadas nas análises microbiológicas realizadas.

Em 2016, foi possível quantificar *E.coli* em 9 amostras, cujos valores variaram entre 330 e 4900 MBV/100g. Em 2015 a concentração de *E.coli* detetada em amêijoas-boas com resultados insatisfatórios variando entre 330 e 53.000 NMP/100g (7 amostras). Em 2 amostras foram quantificados teores de *E.coli* superiores a 53 000 NMP/100g.. Estes valores permitem concluir que a sua proveniência nunca poderia ser de zonas não autorizadas, pois o teor de *E.coli* é superior às 46.000 NMP /100g (teor máximo para zonas classificadas para captura de MBV).

As restantes amostras são sobretudo oriundas de zonas de classe B, existindo somente uma amostra de classe C referente ao ano de 2016 com um teor de 4900 NMP *E.coli*/100g.

De referir ainda que no ano de 2013 foi detetada uma amostra de ameijo-a-boa positiva a *Salmonella* em 25g.

Gráfico 12 - Tipologia de operador económico e resultados não conformes de amêijoa-boa.



Como é visível no gráfico 13 os resultados microbiológicos insatisfatórios de amêijoa-boa, dizem respeito somente a amostras colhidas na restauração, não tendo sido detetado resultados insatisfatórios noutros tipos de estabelecimentos. Estes resultados podem indiciar que a proveniência de alguns MBV disponíveis na restauração não segue o percurso obrigatório pela legislação, ou seja, não estão sujeitas a controlo sanitário.

6. Apresentação de dados de amêijoa-japonesa

A amêijoa-japonesa é o alvo central deste estudo. Este MBV é cada vez mais popular entre os portugueses em estabelecimentos de restauração. A sua disponibilidade para consumo é elevada, encontrando-se facilmente acessível ao consumidor para utilização direta e/ou acessível para retalhistas com fins de comercialização. Acresce a facilidade de aquisição deste MBV sem qualquer controlo sanitário junto às zona do estuário do Tejo, ria de Aveiro ou rio Sado.

O número crescente de apanhadores não autorizados, assim como a existência de depósitos e mesmo centros de depuração e/ou depósitos ilegais, associados ao não cumprimento das etapas obrigatórias dos processos de afinação e/ou depuração que estes MBV são obrigados

a cumprir antes da sua comercialização, são as principais causas da sua comercialização sem o devido respeito pelos critérios microbiológicos.

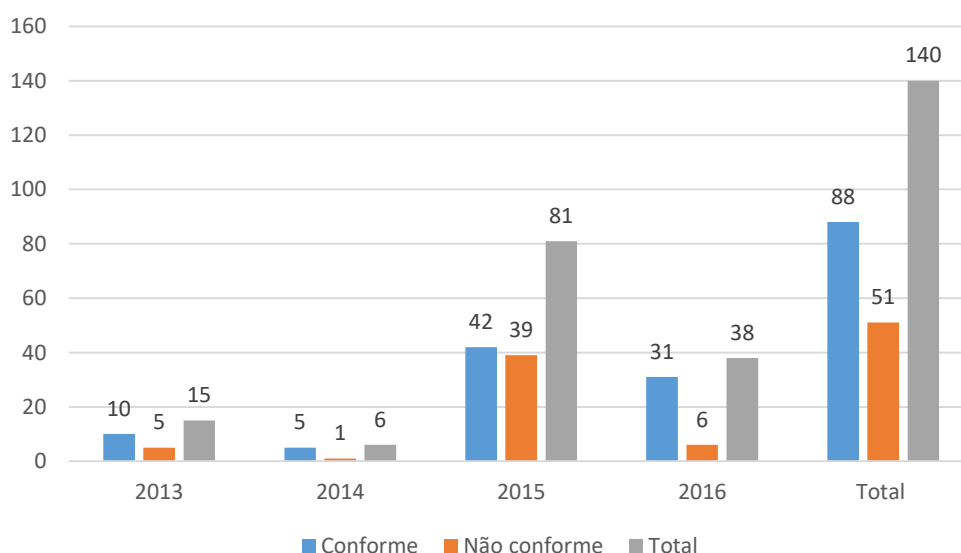
Estes factos estiveram na origem do Plano de controlo da ASAE (PNCA) se direccionar no sentido de apertar o controlo deste sector, monitorizando o mercado retalhista quanto a esta realidade.

Tabela 14 - Número de amostras de amêijoja-japonesa colhidas entre os anos 2013 e 2016

Anos	Amostras
2013	15
2014	6
2015	81
2016	38
Total	140

No total foram analisadas 140 amostras de amêijoja-japonesa no quadriénio 2013-2016, tendo-se destacado 2015 como o ano com maior colheita de amostras (81 amostras) (tabela 14). No ano de 2016 existiu um decréscimo de amostras em comparação com o ano anterior, motivado por orientações internas da ASAE, no sentido de deslocar a ação de controlo para a cadeia inspetiva.

Gráfico 13 - Resultados de conformidade e resultados insatisfatórios de amêijoja-japonesa



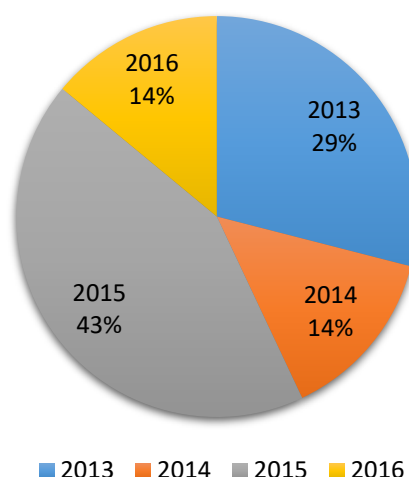
Quanto aos resultados obtidos, verificou-se que 2015 foi efetivamente o ano com maior número de resultados insatisfatórios, num total de 39 amostras,

Tabela 15 - Resultados insatisfatórios amêijoa-japonesa 2013-2016 (PNCA)

Determinação analítica	2013	2014	2015	2016	Total
<i>E.Coli</i>	4	1	39	6	50
<i>Salmonella</i> 25g	1				1
Total	5	1	39	6	51

No que concerne aos dados dos resultados insatisfatórios, verificou-se que os critérios de segurança microbiológicos foram a única causa de resultados não insatisfatórios.

Figura 13 - Percentagem anual de resultados insatisfatórios de origem microbiológica de amêijoa-japonesa



Relativamente aos teores de *E.coli* que corresponderam aos resultados insatisfatórios, todos com teor superiores ao valor máximo admissível de 230 NMP *E.coli*/100g, variaram entre 310 e superior a 180.000 NMP *E.coli*/100g, conforme se pode observar no gráfico nº 15.

Neste mesmo gráfico é possível constatar que no ano 2015 foram colhidas 6 amostras, com teores de 5.400 NMP *E.coli*/100g 3 amostras com teores superiores a 54.000 NMP *E.coli*/100g, este valor permite concluir que a sua proveniência seria de zona proibidas, com apanha interdita (valores superiores a 46.000 NMP *E.coli*/100g).

Em relação ao ano de 2013, não foi possível aferir dos valores de *E.coli*, neste mesmo ano, foi detetada a presença de *Salmonella* numa amostra. No ano de 2016 foi também analisada uma amostra que provinha de zona proibida, com um valor detetado superior a >180.000 NMP *E.coli*/100g.

Gráfico 14 - Teores de *E.coli*, *Salmonella* e causa das não conformidades microbiológicas

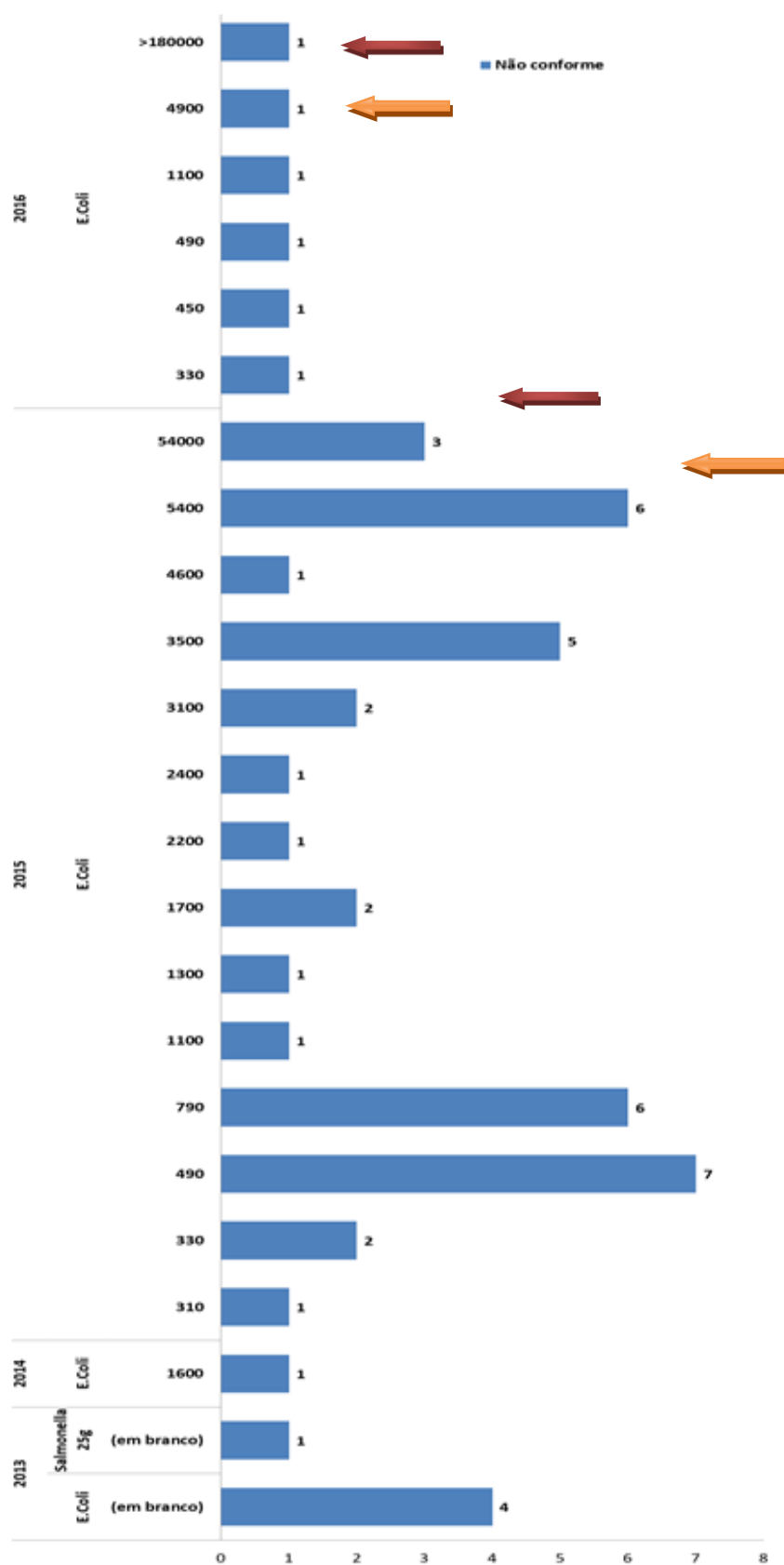
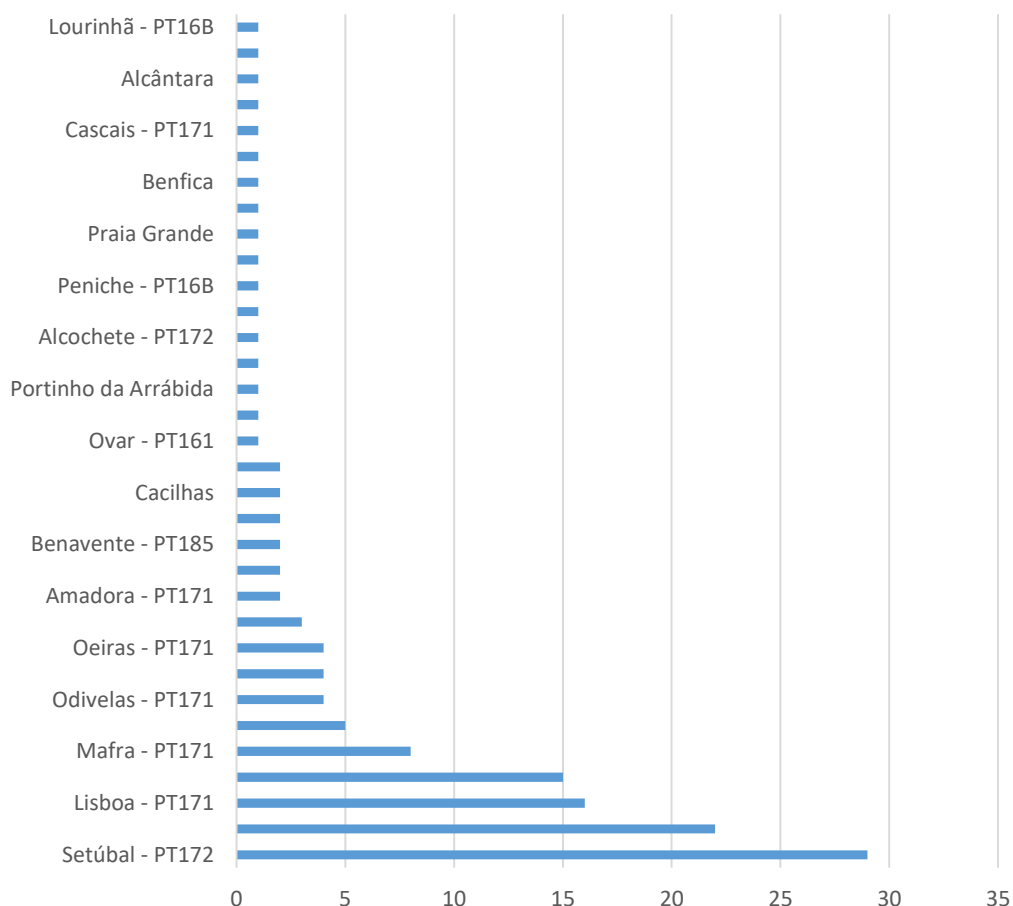


Gráfico 15 - Locais e número das colheitas de amostras de amêijoja-japonesa entre os anos 2013 e 2016

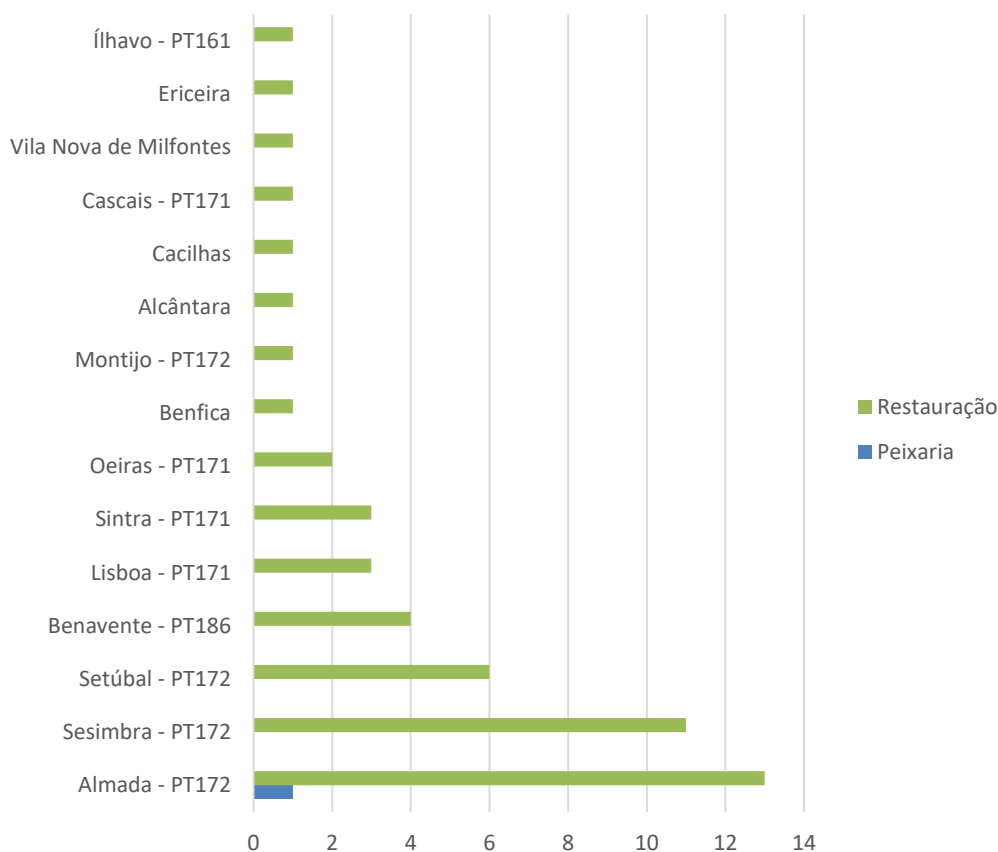


No que diz respeito à localização dos pontos de colheita, verificou-se que a grande concentração está circunscrita na zona da grande Lisboa e Setúbal, existindo, no entanto, colheitas pontuais em zonas mais a norte de Lisboa, caso de Ílhavo, Ovar, Lourinhã e Peniche. Estes locais foram sobretudo escolhidos por estarem próximo do Estuário do Tejo, zona onde a predominância da amêijoja-japonesa é grande.

Outro fator que pesou no planeamento e colheita de amostras, está relacionado com contingências operacionais, uma vez que muitos dos locais onde foram colhidas as amêijoas japonesas eram restaurantes, o seu horário de funcionamento inicia-se por volta do meio-dia; este facto aliado ao tempo despendido no preenchimento dos documentos oficiais acrescido ao tempo de transporte das amostras para os laboratórios da ASAE, explica-se que só muito pontualmente fossem colhidas amostras fora da região da grande Lisboa. Este

condicionamento não permite que se consiga ter uma perspetiva geral da contaminação das amêijoas-japonesas disponibilizadas ao consumidor final em Portugal.

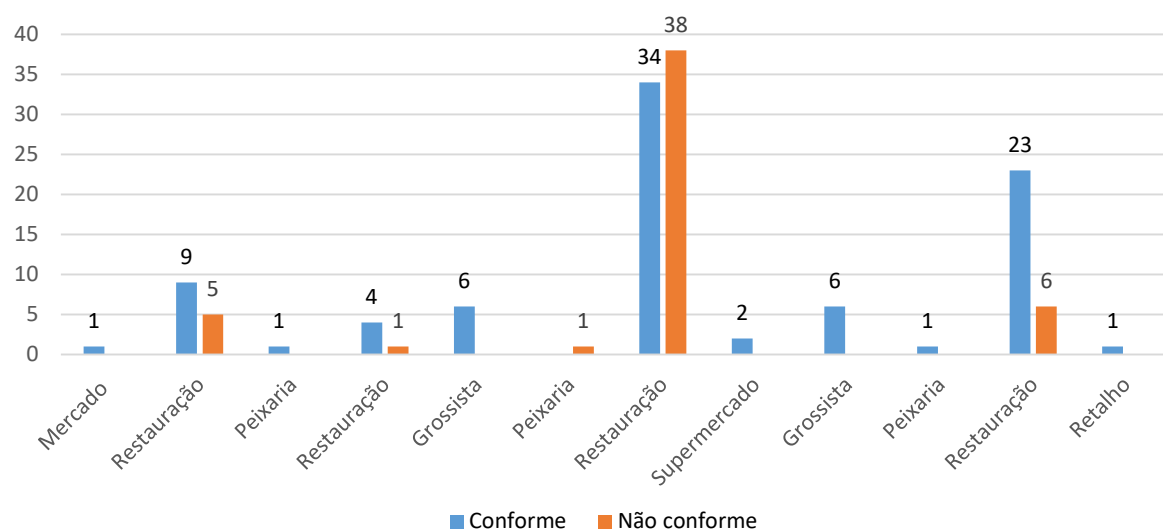
Gráfico 16 - Localização dos pontos de recolha das amostras de amêijoa-japonesa com resultados insatisfatórios



Em relação aos locais onde foi detetado um maior número de resultados insatisfatórios de amêijoa-japonesa, o concelho de Almada com 14 amostras é o que apresenta maior incumprimento legal, sendo seguido pelo concelho de Sesimbra e Setúbal, com 11 e 6 resultados insatisfatórios, respetivamente.

De notar que em 22 amostras colhidas em Almada, 14 apresentaram não conformidade, o que perfaz 63% de incumprimento, sendo que em Sesimbra em 15 amostras colhidas, 11 apresentaram também não conformidade, perfazendo assim 73% de incumprimento. Em Benavente, todas as 4 amostras analisadas foram não conformes, significando uma frequência de resultados não conformes de 100 %.

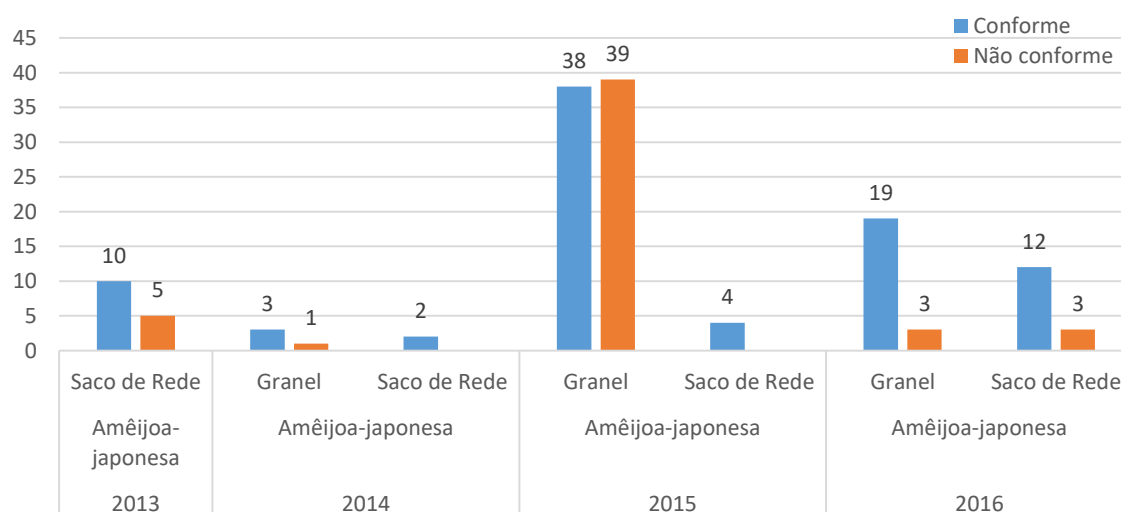
Gráfico 17 - Tipificação dos estabelecimentos onde foram colhidas as amostras de amêijoas-japonesa e classificação da conformidade analítica.



No gráfico n.º 18 é possível constatar que a totalidade de resultados insatisfatórios, foi detetada em amostras que estavam a ser comercializadas na restauração, existindo somente um caso com resultados insatisfatórios no ano de 2015 numa peixaria.

Este gráfico ilustra a realidade da restauração, na qual algumas amêijoas disponibilizadas não provêm de centros de expedição ou grossistas.

Gráfico 18 - Amostras com resultados insatisfatórios e conformes quanto ao modo de embalagem das amêijoas-japonesas



Relativamente aos resultados de amêijoa-japonesas com resultados microbiológicos insatisfatórios e modo de embalagem, aquando do momento da colheita de amostras, a frequência é muito superior nas amostras a granel, qualquer sem rastreabilidade.

No que concerne ao ano de 2015 todas as amostras com resultados microbiológicos insatisfatórios, estavam à venda ao consumidor final em granel, estes dados permitem concluir as amêijoas vendidas nestes estabelecimentos não passaram por centros de depuração e/ou de expedição conforme a legislação obriga.

O gráfico 19 mostra que as amêijoas disponibilizadas ao consumidor final a granel, apresentaram resultados insatisfatórios na maioria dos casos.

No ano de 2013, verificou-se que as 5 amostras não conformes, se encontravam acondicionadas em saco de rede. Uma vez que não temos quantificação do teor de *E. coli* presente nestas amêijoas, pois o laboratório da ASAE, não efetuava a quantificação, só apresentando no boletim analítico. satisfatório ou insatisfatório. Tendo em conta a boa-fé dos operadores económicos, pode-se supor que as amêijoas vieram de centros de depuração autorizados, no entanto a depuração das amêijoas poderá não ter sido corretamente realizada.

7 Discussão

A realização desta dissertação teve como objetivo apresentar os resultados analíticos obtidos no controlo oficial efetuado no quadriénio 2013-2016, a moluscos bivalves produzidos e apanhados em zonas estuarinas portuguesas, com o intuito de serem vendidas ao consumidor final. Nesta dissertação é também abordada a questão da comercialização e critérios legais obrigatórios que os MBV têm de obedecer. A apanha ilegal, sua comercialização, sem o devido controlo sanitário, em especial da amêijoia-japonesa, também foi mencionada.

De acordo com o Regulamento (CE) n.º 178/2002, os operadores económicos devem garantir que cumprem os requisitos da legislação alimentar, sendo responsáveis por colocar no mercado géneros alimentícios seguros, tendo o dever de os retirar do mercado quando os géneros alimentícios não seguros.

A ASAE tem como missão garantir e salvaguardar os interesses dos consumidores e zelar pela segurança dos alimentos. Através do seu plano de controlo oficial por amostragem (PNCA), consegue aferir se os géneros alimentícios colados à disposição do consumidor final são seguros e/ou se cumprem os parâmetros legais estipulados.

Face aos resultados obtidos, é evidente que este tipo de controlo é fundamental, porque são um mecanismo de controlo que permite identificar o risco associado aos diferentes grupos de géneros alimentícios e identificar aqueles que exigem atenção especial das Autoridades Competentes.

Sabendo que, por norma, os MBV consumidos são sujeitos a uma confeção cujo processamento térmico é reduzido, e que este poderá não ser suficiente para eliminar as possíveis bactérias patogénicas eventualmente presentes. Importa garantir que os MBV colocados à disposição dos consumidores cumpram todos os requisitos de segurança aplicáveis (Chiesa *et al.*, 2017).

Os MBV analisados apresentaram percentagem de resultados insatisfatórios elevados, como é o caso do ano de 2016 com 29%(gráfico n.º 1), dando um valor médio de 21% de resultados insatisfatórios no quadriénio em estudo. Em comparação com o valor médio global dos resultados insatisfatórios detetados no PNCA na ordem dos 8% (gráfico n.º 2), sendo evidente que existe um problema de segurança alimentar no que diz respeito a este grupo alimentar.

No que concerne à causa dos resultados insatisfatórios, as análises dos resultados comprovaram que 95% dos casos se devem à falta de cumprimento dos critérios

microbiológicos (figura 11), tendo-se destacado o ano de 2015, com 50 amostras que apresentaram resultados insatisfatórios (gráfico 3),

Relativamente à pesquisa de metais pesados (mercúrio, chumbo e cádmio) foram analisadas 82 amostras no quadriénio (gráfico 7), existindo 3 amostras com insatisfatórios (gráfico n.º 8), 3 amostras de ostra que apresentaram um teor de cádmio superior ao limite máximo de resíduo estipulado.

Relativamente à amêijoia-boia, tal como referido, é uma das espécies mais abundante no estuário do Tejo, sendo também um dos principais MBV comercializados na restauração e de maior valor comercial.

Neste estudo foram analisadas 124 amostras desta espécie (tabela 13), com uma taxa de incumprimento de 19% (figura 12), relativamente aos critérios de segurança microbiológicos no parâmetro *E.coli*.

Os teores de *E.coli* obtidos nas amostras analisadas revelaram que grande parte dos bivalves teriam sido apanhados em zonas classificadas como classe B (gráfico n.º 11) e/ou classe C, com teores máximos detetados de *E.coli* na ordem das 53.000 NMP/100 g.

De referir ainda que, todos os resultados insatisfatórios foram detetados em amostras que se encontravam disponíveis para consumo em restauração.

Relativamente à amêijoia-japonesa, constata-se que foram analisadas 140 amostras desta espécie (tabela 14). Destas, 51 amostras não cumpriam os critérios de segurança quanto aos parâmetros *E.coli*. Destaca-se, relativamente à percentagem de amostras com resultados insatisfatórios, o ano de 2015, com uma taxa de incumprimento de 43% (figura 13).

No que concerne ao teor de contaminação por *E.coli* verificou-se que a maioria dos resultados insatisfatórios é compatível com apanha em zonas de classe B (gráfico n.º 14). Existem, contudo, amostras cujo teor de contaminação indicia que as amêijoas terão sido apanhadas em zonas de classe C.

Conforme se pode também verificar no gráfico 14, foram analisadas amostras de amêijoas com teores de *E.coli* de 54.000 NMP *E.coli*/100g, destacando-se também uma amostra com um teor na ordem das 180.000 NMP *E.coli*/100g. Estes resultados são reveladores de que as amêijoas foram colhidas em zonas não classificadas/proibidas. A apanha ilegal em ambientes altamente poluídos pode constituir um risco para a saúde humana, (Chiesa *et al.*, 2017).

Estas amostras foram colhidas na sua grande maioria na área grande Lisboa e arredores (gráfico n.º 15) destacando-se o distrito de Setúbal, com perto de 30 amostras.

Almada, Sesimbra e Setúbal, foram os locais que apresentaram maior número amostras com resultados “não conformes” detetados, respetivamente 13, 11 e 6 amostras. A restauração representa o ponto de colheita onde foram colhidas a quase totalidade das amostras com resultados insatisfatórios, existindo apenas uma amostra de amêijoa-japonesa que foi colhida numa peixaria com resultado insatisfatório (gráfico 17).

Os dados extrapolados permitem concluir ainda que 46 amostras de amêijoa-japonesa se encontravam expostas a granel (gráfico 18), sem evidências de rastreabilidade e de controlo sanitário.

Foi verificado pelos técnicos que efetuaram as colheitas, a manutenção na restauração da prática incorreta, sujeita a sanção, de colocarem as amêijoas em recipientes com água e/ou a exposição a granel dos MBV (sem estarem em embalagens devidamente seladas e/ou acompanhadas da devida rastreabilidade), contrariando assim o previsto no Regulamento n.º 853/2004 e a Portaria 1421/2006¹⁰ de 21 de dezembro.

Importa referir que a venda de bivalves, a estabelecimentos comerciais grossistas, retalhistas ou ao consumidor final só poderá ser realizada após passagem por um centro de depuração e ou centro de expedição, de acordo com o fixado no Regulamento (CE) n.º 853/2004 e na Portaria n.º 197/2006 ¹¹ de 23 de fevereiro.

¹⁰ Portaria 1421/2006» estabelece as regras de produção e comercialização de moluscos bivalves, equinodermes, tunicados e gastrópodes marinhos vivos, complementares aos Regulamentos (CE) n.º852/2004 e 853/2004, ambos do Parlamento Europeu e do Conselho, de 29 de Abril

¹¹ Portaria n.º 197/2006 estabelece as normas que regulam a autorização de primeira venda de pescado fresco fora das lotas

8 Conclusão

Esta dissertação permite concluir que os controlos oficiais são fundamentais, para conhecimento do estado de segurança dos géneros alimentícios colocados no mercado.

No que concerne à amêijoia-japonesa e amêijoia-boia verifica-se que, parte do circuito comercial poderá ser sustentado por operadores não licenciados, que se dedicam ao fornecimento ilegal deste género alimentício.

Desta forma e face a uma realidade que pode colocar em causa a segurança alimentar dos consumidores na sequência de atividades ilegais com impacto na cadeia alimentar nacional, é necessária uma eficaz articulação entre as diversas autoridades competentes que têm intervenção neste sector, tais como ASAE, DGAV, Polícia Marítima, IPMA, DGRM, Guarda Nacional Republicana e Autoridade Tributária, através de ações conjuntas ou coordenadas e partilha de dados.

Os dados analisados nesta dissertação comprovam que existe um circuito paralelo relacionado com a amêijoia-japonesa e a sua comercialização, nomeadamente na restauração.

Os profissionais da restauração têm que garantir que os géneros alimentícios que são vendidos nos seus estabelecimentos são seguros. Constatou-se, no entanto, que existem profissionais desta área que não têm os cuidados mínimos com a matéria-prima que adquirem (MBV), que só deveria provir de centros de expedição, estando completamente vedado o fornecimento direto de qualquer quantidade de MBV pelo produtor/apanhador ao consumidor final, comércio ou retalho local que fornece diretamente o consumidor final, neste âmbito.

A restauração representa a quase totalidade das amostras cujos resultados ao teor de *E.coli* se apresentaram não satisfatórias., tanto para a amêijoia-japonesa como para a amêijoia-boia. Esta constatação permite concluir que este setor deve continuar a ser alvo de uma vigilância e consequentemente fiscalização direcionada, bem como de uma fiscalização a nível tributário. É também evidente a correlação positiva entre amostras que se encontravam a granel no momento da colheita e os resultados insatisfatórios.

Relativamente ao teor de contaminação de *E.coli* verifica-se que 4 amostras em 51 são compatíveis com captura em zonas não classificadas, com teores de *E.coli* > 46.000, sendo que uma das amostras atingiu mesmo um teor superior a 180.000 NMP *E.coli*/100g. Estes

resultados permitem aferir da necessidade de um maior controlo por parte da Policia Marítima das zonas não classificadas/proibidas,

Este estudo de caso apresenta alguns constrangimentos. O facto de o laboratório de microbiologia se encontrar fisicamente em Lisboa, associado ao tipo de amostra (animal vivo) e análise (microbiológica), bem como ao horário da restauração e do próprio laboratório faz com que na sua maioria as amostras sejam colhidas na região de Lisboa, impedindo deste modo ter uma representação nacional da contaminação deste MBV quando disponível ao consumidor final.

Por outro lado, a dificuldade de colher 5 exemplares por amostra (2.5kg peso bruto) para efetuar a pesquisa de salmonela não permitiu verificar estabelecer uma ligação entre a presença de *E.coli* e a presença/ausência da *Salmonella spp.*

A regulamentação europeia, mais em concreto a relativa aos critérios microbiológicos deveria assim, acrescentar como obrigatoriedade a pesquisa e eventual contagem de *Vibrio spp.*, em MBV, visto que o *Vibrio spp.*, pode conseguir resistir à depuração, a única forma de garantir que não está presente no momento da ingestão é assegurar que os MBV são devidamente confeccionados.

Face a estes dados, a contagem de *E.coli* poderá não ser suficiente como critério de segurança microbiológica.

Sabendo que o IPMA semanalmente emite os dados referentes à interdição MBV, devido a presença de biotoxinas marinhas, em zonas litorais e zonas estuarino-lagunares e sabendo que a grande maioria da apanha da ameijoia-japonesa é exercida por apanhadores não licenciados, torna-se fundamental que durante o período em que a apanha está interdita, exista uma maior fiscalização das autoridades competentes, pois o perigo da ingestão de alimentos não seguros é superior.

A maioria da apanha de amêijoa-japonesa é efectuada por apanhadores não licenciados, por técnicas ilegais (ganchorra e mergulho com escafandro), em zonas não classificadas. Urge assim que o Estado Português adote medidas específicas de regulamentação tendo sempre em conta o impacto socioeconómico.

Diversas famílias têm como única forma de subsistência a amêijoa-japonesa, este novo negocio envolve diversos tipos de atividade, sendo na sua grande maioria negócios em que não é declarado qualquer fonte de rendimento, tais como oficinas ilegais de reparação das

embarcações utilizadas na apanha da ameijoa, oficinas que se dedicam ao fabrico de utensílios usados na apanha, aluguer de embarcações e claro está depósitos e depuradoras não licenciadas. O “negócio” da amêijoa-japonesa, deve de fato ser corretamente legislado pelo estado Português, através da criação de um plano bem estruturado, que deverá ter sempre em consideração que estamos perante um recurso financeiro que poderá auxiliar na economia local e nacional.

Por último e relativamente aos atuais depósitos (armazéns) não licenciados, importa regularizar a situação, aprovando os que possuem condições e garantido a rastreabilidade dos MBV, esta situação poderia facilitar o escoamento da amêijoa-japonesa, promover o emprego e promover a economia da região e nacional.

Bibliografia

- Amagliani, G., Brandi, G., & Schiavano, G. F. (2012). Incidence and role of Salmonella in seafood safety. *Food Research International journal (FRIN)*, 45, 780–788.
- Anacleto, P., Maulvault, A. L., Nunes, M. L., Carvalho, M. L., Rosa, R., & Marques, A. (2015). Effects of depuration on metal levels and health status of bivalve molluscs. *Food Control*, 47, 493–501.
- Anacleto, P., Pedro, S., Nunes, M. L., Rosa, R., & Marques, A. (2013). Microbiological composition of native and exotic clams from Tagus estuary: Effect of season and environmental parameters. *Marine Pollution Bulletin*, 74(1), 116–124
- Bidegain, G., & Juanes, J. A. (2013). Does expansion of the introduced Manila clam *Ruditapes philippinarum* cause competitive displacement of the European native clam *Ruditapes decussatus*? *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 445, 44–52.
- Centre for Agriculture and Biosciences International (CABI) (2011). *Ruditapes philippinarum* (Japanese carpet shell). 22 de outubro de 2017.
- Carraro, V., Sanna, C., Brandas, V., Sanna, A., Pinna, A., & Coroneo, V. (2015). Hygiene and health risks associated with the consumption of edible lamellibranch molluscs. *International Journal of Food Microbiology*, 201, 52–57.
- Chainho, P., Fernandes, A., Amorim, A., Ávila, S. P., Canning-Clode, J., Castro, J. J., Costa, M. J. (2015). Non-indigenous species in Portuguese coastal areas, coastal lagoons, estuaries and islands. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 167, 199–211.
- Chiesa, S., Chainho, P., & Ruano, F. (2016). Country report from Portugal, (42).
- Chiesa, S., Chainho, P., Almeida, Â., Figueira, E., Soares, A. M. V. M., & Freitas, R. (2018). Metals and As content in sediments and Manila clam *Ruditapes philippinarum* in the Tagus estuary (Portugal): Impacts and risk for human consumption. *Marine Pollution Bulletin*.
- Chiesa, S., Lucentini, L., Freitas, R., Nonnis Marzano, F., Breda, S., Figueira, E., Argese, E. (2017). A history of invasion: COI phylogeny of Manila clam *Ruditapes philippinarum* in Europe. *Fisheries Research*, 186, 25–35.

Chiesa, S., Nonnis Marzano, F., Minervini, G., De Lucrezia, D., Baccarani, G., Bordignon, G., Argeese, E. (2011). The invasive Manila clam *Ruditapes philippinarum* (Adams and Reeve, 1850) in Northern Adriatic Sea: Population genetics assessed by an integrated molecular approach. *Fisheries Research*, 110(2), 259–267.

Community Guide to the Principles of Good Practice for the Microbiological Classification and Monitoring of Issue 2, January 2014. (2014), (2).

Bettencourt, F., Matias, D., Soares, F. (2012). Microbiological monitoring of bivalve molluscs growing areas: a food safety and public health approach. *Aquaculture Europe*, 37 (3), 11 – 15.

Food and Agriculture Organization (FAO) (2009). Cultured aquatic species fact sheets: *Ruditapes philippinarum* (Adams & Reeve, 1850).

Freitas, R., Ramos Pinto, L., Sampaio, M., Costa, A., Silva, M., Rodrigues, A. M., Figueira, E. (2012). Effects of depuration on the element concentration in bivalves: Comparison between sympatric *Ruditapes decussatus* and *Ruditapes philippinarum*. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 110, 43–53.

Garaulet, L. L. (2011). Estabelecimento do bivalve exótico *Ruditapes philippinarum* (Adams & Reeve, 1850) no estuário do Tejo: caracterização da população atual e análise comparativa com a congénere nativa *Ruditapes decussatus* (Linnaeus, 1758) e macrofauna bentónica acompanhante, 77. Dissertação de Mestrado em Ecologia Marinha. Lisboa: Faculdade de Ciências (Departamento de Biologia Animal) – Universidade de Lisboa.

ISO 16140 (2003- E). Microbiology of food and animal feeding stuffs — Protocol for the validation of alternative methods. International Organization for Standardization. Suíça

ISO 16649-3 (2015). Microbiology of the food chain - Horizontal method for the enumeration of beta-glucuronidase positive *Escherichia coli*. International Organization for Standardization. Suíça.

Lee, R., Lovatelli, A., & Ababouch, L. (2008). Bivalve depuration: fundamental and practice aspects. FAO. Fisheries Technical Paper.

Manita, D. F. P. (2017). Bioacessibilidade in vitro das biotoxinas marinhas ácido ocadaico, dinofisistoxina -2 e seus derivados em bivalves crus e cozinhados - Dissertação de Mestrado em Segurança Alimentar. Lisboa: Faculdade de Medicina Veterinária) – Universidade de Lisboa

Moschino, V., Delaney, E., & Da Ros, L. (2012). Assessing the significance of *Ruditapes philippinarum* as a sentinel for sediment pollution: Bioaccumulation and biomarker responses. *Environmental Pollution*, 171, 52–60.

Moura, P., Garaulet, L. L., Vasconcelos, P., Chainho, P., Costa, J. L., & Gaspar, M. B. (2017). Age and growth of a highly successful invasive species: The manila clam *ruditapes philippinarum* (adams & reeve, 1850) in the Tagus estuary (Portugal). *Aquatic Invasions*. <https://doi.org/10.3391/ai.2017.12.2.02>.

Oliveira, J., Cunha, A., Castilho, F., Romalde, J. L., & Pereira, M. J. (2011). Microbial contamination and purification of bivalve shellfish: Crucial aspects in monitoring and future perspectives - A mini-review. *Food Control*, 22(6), 805–816.

Oliveira, M. C. R. M. (2012). Moluscos bivalves em Portugal: composição química e metais contaminantes. Dissertação para obtenção do Grau de Mestre em Tecnologia e Segurança Alimentar; Universidade Nova de Lisboa; Almada, Portugal pp- 85.

Paul-Pont, I., Montaudouin, X., Gonzalez, P., Jude, F., Raymond, N., Paillard, C., & Baudrimont, M. (2010). Interactive effects of metal contamination and pathogenic organisms on the introduced marine bivalve *Ruditapes philippinarum* in European populations. *Environmental Pollution*, 158(11), 3401–3410.

Portaria nº 27/2001 de 15 de janeiro de 2001. Diário da República n.º 12/2001 – I Serie B. Ministério da Agricultura, do Desenvolvimento Rural e das Pescas. Lisboa.

Portaria nº 1421/2006 de 21 de dezembro de 2006. Diário da República, 1Série – Nº244. Ministério da Economia e da Inovação e da Agricultura, do Desenvolvimento Rural e das Pescas. Lisboa.

Portaria nº 85/2011 de 25 fevereiro de 2011. Diário da República, 1Série - Nº40. Ministério da Agricultura, do Desenvolvimento Rural e das Pescas. Lisboa.

Ramajal, J., Picard, D., Costa, José, L., C., Frederico B., Gaspar, M., B., & Chainho, P. (2016). Alterações Naturais e Induzidas pelo Homem- Impactos, 18.

REGULAMENTO (CE) N.º 854/2004 de 29 de abril de 2004 que estabelece regras específicas de organização dos controlos oficiais de produtos de origem animal destinados ao consumo humano. (JO L 139 de 30.4.2004, p. 206).

REGULAMENTO (CE) N.º 882/2004 de 29 de abril de 2004 relativo aos controlos oficiais realizados para assegurar a verificação do cumprimento da legislação relativa aos alimentos para animais e aos géneros alimentícios e das normas relativas à saúde e ao bem-estar dos animais (JO L 165 de 30.4.2004, p. 1).

REGULAMENTO (CE) N.º 178/2002 de 28 de janeiro de 2002 que determina os princípios e normas gerais da legislação alimentar, cria a Autoridade Europeia para a Segurança dos Alimentos e estabelece procedimentos em matéria de segurança dos géneros alimentícios (JO L 31 de 1.2.2002, p.1).

REGULAMENTO (CE) N.º 1831/2003 de 22 de setembro de 2003 que estabelece regras específicas de segurança para os aditivos alimentares (JO L 261 de 28.9.2003, p. 1).

REGULAMENTO (CE) N.º 2073/2005 de 15 de novembro de 2005 relativo a critérios microbiológicos aplicáveis aos géneros alimentícios (Texto relevante para efeitos do EEE) (JO L 338 de 22.12.2005, p. 1).

REGULAMENTO (CE) N.º 853/2004 de 29 de abril de 2004, relativo à higiene dos géneros alimentícios. Jornal Oficial da União Europeia. Portugal.

REGULAMENTO (CE) N.º 853/2004 de 29 de abril de 2004 que estabelece regras específicas de higiene aplicáveis aos géneros alimentícios de origem animal. (JO L 139 de 30.4.2004, p. 55).

REGULAMENTO (UE) 2015/2285 DA COMISSÃO de 8 de dezembro de 2015 que altera o anexo II do Regulamento (CE) N.º 854/2004 do Parlamento Europeu e do Conselho.

Richard, G., Guérard, F., Corporeau, C., Lambert, C., Paillard, C., & Pernet, F. (2016). Metabolic responses of clam *Ruditapes philippinarum* exposed to its pathogen *Vibrio tapetis* in relation to diet. *Developmental and Comparative Immunology*, 60, 96–107.

Rubini, S., Galletti, G., Incau, M. D., Govoni, G., Boschetti, L., Berardelli, C., ... Giacometti, F. (2018). Occurrence of *Salmonella enterica* subsp. *enterica* in bivalve molluscs and associations with *Escherichia coli* in molluscs and faecal coliforms in seawater. *Food Control*, 84, 429–435.

Sacchi, A., Mouneyrac, C., Bolognesi, C., Sciutto, A., Roggieri, P., Fusi, M., Capri, E. (2013). Biomonitoring study of an estuarine coastal ecosystem, the Sacca di Goro lagoon, using *Ruditapes philippinarum* (Mollusca: Bivalvia). *Environmental Pollution*, 177, 82–89.

Só Biologia. Tecnologia da Informação, 2008-2017. Classificação dos moluscos. Acedido set. 9, 2017, disponível em: <https://bio.sobiologia.com.br/conteudos/Reinos2/moluscos2.php>

Soares, F.; Almeida, C.; Cachola, R. (2012). Qualidade microbiológica dos bivalves da Ria Formosa - vinte anos de resultados. *Relatórios Científicos e Técnicos, serie digital*, 54, 1–47.

Vale, P. (2012). Biotoxinas marinhas em águas europeias. *Riscos e Alimentos* n. ° 4 – pescado. páginas 16-19. Lisboa: ASAE.